

Aus der Frauenklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. V. Friedberg)
Abteilung für Experimentelle Endokrinologie

Zum Stoffwechsel von sulfokonjugiertem
Dehydroxyepiandrosteron bei Hyperlipidämie

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Dieter Heinz

aus Deutsch Krone/Westpreußen

Mainz

1976

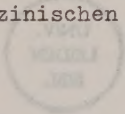


Aus der Frauenklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. V. Friedberg)
Abteilung für Experimentelle Endokrinologie

Zum Stoffwechsel von sulfokonjugiertem
Dehydroxyepiandrosteron bei Hyperlipidämie

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen



vorgelegt von

Dieter Heinz

aus Deutsch Krone/Westpreußen

Mainz

1976

Fachbereichsdekan: Professor Dr. med. H. Langendorf

1. Gutachter: Professor Dr. med. G. Rathgen

2. Gutachter: Professor Dr. med. V. Friedberg



Meinem verstorbenen Lehrer,
Herrn Professor Dr. rer. nat. G. W. Oertel
gewidmet
in Verehrung und Verbundenheit

•

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1. <u>Einleitung</u>	1
1.1. Klassifikation der Hyperlipidämien	1
1.1.1. Klinische Bedeutung der Hyperlipidämien ..	4
1.1.2. Typeneinteilung der Hyperlipidämien	8
2. <u>Der Pentosephosphatzzyklus und seine Bedeutung für den Fettstoffwechsel</u>	14
2.1. Fettsäuresynthese	17
3. <u>Dehydroepiandrosteron und sein Metabolismus mit Wirkung auf die Glucose-6-PDH</u>	20
4. <u>Material und Methodik</u>	25
4.1. <u>Aufarbeitung von Plasma</u>	27
4.1.1. Extraktion der freien Steroide	27
4.1.2. Gewinnung der gesamten Steroid-Konjugate	27
4.1.3. Säulenchromatographische Fraktionierung der 17-Ketosteroide	27
4.1.4. Solvolyse der Steroid-Konjugate	28
4.1.5. Entfettung	29
4.1.6. Farbreaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin	29
4.1.7. Dünnschichtchromatographische Isolierung von DHEA, ADIOL, ETIO und ANDRO	29
4.2. <u>Aufarbeitung des Harns (Bestimmung von C₁₉-Steroiden)</u>	30
4.2.1. Extraktion der 17-Ketosteroide	30

4.3.	<u>Aufarbeitung des Hämolysats (Bestimmung von C₁₉-Steroiden)</u>	30
4.3.1.	Perchlorsäure-Äther-Solvolyse (Solvolyse von konjugiertem DHEA, ADIOL, ETIO und ANDRO)	30
4.4.	<u>Aufarbeitung von 10 ml Plasma der 1. unmarkierten Blutprobe</u>	31
4.4.1.	Enteiweißung	31
4.4.2.	Isolierung von DHEA und ADIOL mittels zweimaliger Dünnschichtchromatographie ...	31
4.5.	<u>Konzentrationsmessung im Beckman-Spektralphotometer</u>	32
5.	<u>Statistische Zuverlässigkeitskriterien</u> ...	34
5.1.	<u>Genauigkeitsmaße</u>	34
5.1.1.	Stichprobe	34
5.1.2.	Mittelwert einer Stichprobe	34
5.1.3.	Varianz einer Stichprobe	34
5.1.4.	Streuung	35
5.1.5.	Standardabweichung	35
5.1.6.	Hypothese	35
5.1.7.	Vergleich der Mittelwerte zweier unabhängiger Stichproben	36
5.1.8.	Vergleich zweier Mittelwerte verbundener Stichproben	36
5.1.9.	Der Signifikanz-Test	37
6.	<u>Ergebnisse</u>	38

	<u>Seite</u>
7. <u>Diskussion</u>	49
8. <u>Zusammenfassung</u>	54
9. <u>Literaturverzeichnis</u>	56

Allgemeine Abkürzungen bzw. abgekürzte
chemische Bezeichnungen in vorliegender
Arbeit.

Ext.	Extinktion
Ext. _x korr.	Korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge x
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazin
G-6-PDH	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
E	Erythrozyten
NADPH ⁺	Nicotin-adenin-dinucleotid(reduzierte Form)
PPC	Pentose-phosphat-Cyclus
SA	Spezifische Aktivität gemessen in cpm ³ H/ μ g
TG	Triglyceride

Steroidabkürzungen

ADIOL	5-Androsten-3 β ,17 β -diol
ANDRO	3 α -Hydroxy-5 α -androstan-17-on
Chol	Cholesterin
DHEA	3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on (Dehydroxyepiandrosteron)
DHEA-S	DHEA-Sulfat
DHEA-STD	DHEA-Sulfatid
DHEA-Gluc	DHEA-Glucuronide
ETIO	3 α -Hydroxy-5 β -androstan-17-on (Etiocholanolon)
17 β -OH-SD	17 β -Hydroxy-Steroide
Pregnenolon	3 β -Hydroxy-4-androsten-3-on

Aus dem eben Dargelegten läßt sich nun die Bezeichnung Hyperlip(o)idämie für eine Vermehrung der Gesamtlip(o)ide im Plasma ohne weiteres verstehen.

Zur Vermeidung von Mißverständnissen sei darauf hingewiesen, daß eine milchige Trübung des Plasmas durch Vermehrung der Neutralfette bzw. Fetttröpfchen z.B. in Form von Chylomikronen üblicherweise als Lipämie respektive Hyperlipämie bezeichnet wird (43, 44).

Da die Lipide als organische Substanzen in Wasser fast ohne Ausnahme unlöslich sind und das Wasser zudem den Hauptbestandteil des Plasmas, nämlich 90%, ausmacht, ist für sie ein Zustand erforderlich, durch den sie in Lösung gehalten werden und der somit ihren Transport in der Blutbahn erlaubt. Dies geschieht in Form eines Lipid-Protein-Komplexes durch die Bindung an spezifische Proteine(Globuline), die als Lösungsvermittler fungieren. Steigen die Lipide im Plasma an, so ist hiermit unmittelbar auch eine Vermehrung der entsprechenden Eiweißfraktion verbunden.

Daher wird eine Blutfetterhöhung präziser durch den Ausdruck "Hyperlipoproteinämie" erfaßt und genauer definiert werden können als durch den anfänglich erwähnten Begriff "Hyperlipidämie". Da man sich aber bisher noch nicht eindeutig auf einen Begriff festgelegt hat, sollen im Folgenden "Hyperlipidämie" und "Hyperlipoproteinämie" synonym gebraucht werden.

Mit Zunahme der Lipoproteine nimmt außer der Eiweißkomponente auch die Lipidfraktion entsprechend zu. Letztere enthält mehrere Lipide, weil jedes einzelne Trägerprotein innerhalb des Fett-Eiweiß-Komplexes verschiedene Lipide in unterschiedlichem, aber für sich entsprechendem Ausmaß bindet und diese demzufolge essentielle Bestandteile des Lipoproteinmoleküls darstellen.

Obwohl das Glycerin Mono-, Di- und Triester entsprechend Mono-, Di- und Triglyceride zu bilden

In Anbetracht dessen, daß sich je nach Zusammensetzung bezüglich Art des Trägerproteins und dem Mengenverhältnis der hiernit verschieden gebundener Lipide die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Lipoproteine wie spezif. Gewicht, Dichte, Größe und Wanderungsgeschwindigkeit in der Elektrophorese in typischer Weise ändern, hat man diesen Parametern innerhalb des Lipoproteinkomplexes eine gewisse pathogenetische Bedeutung zugeschrieben (47,48,49,50,62). Die folgende Tabelle gibt einen Überblick auf die Einteilung der Gesamtlipide.

Lipide und Lipide in Serum

		1. Alkoholkomponente	2. Alkoholkomponente P : N
I. Eigentliche Fette			
Mono-, Di- und Triglyceride			
II. Glycerinphosphatide (Phospholipide)			
Phosphatidsäuren	Diglycerid		1 : 1
Lecithine	"	Cholin	1 : 1
Kaphaline	"	Colamin, Serin	1 : 1
Inositphosphatide	"	Inosit	-
Plasmanogene ("Acetal-phosphatide")	Glycerinester-emulsiher	Cholin, Colamin, Serin	1 : 1
III. Sphingolipide			
Sphingomyeline (Niemann Pick)	N-Acylsphingosin	Cholin	1 : 1
Cerebroside (R. Gaucher)	Glyco-	Galactose, Glucose	-
Sefatide (R. Scholtz)	lipide	Galactosulfat	-
Ganglioside (Amaret. Idiote Tay-Sachs)	(glyco-	Hexosen, Hexosamine	-
	sid, Bindung)	Neuraminsäure	-
IV. Isoprenoidlipide			
Steroide : Sterine (Cholesterin)			
Gallensäuren (Cholsäure)			
Steroidhormone (C ₂₁ , C ₁₉ , C ₁₈)			
Carotinoid (Lipochrome)			
Fettlösliche Vitamine		(Karlson/Klink)	

Von den in der Tabelle angeführten Lipide stehen konzentrationsmäßig an erster Stelle das Cholesterin (Steroid).

vermag, bestehen die meisten natürlich vorkommenden Fette aus komplexen Mischungen zahlreicher gemischter Triglyceride, d.h. aus den Triestern des Glycerins mit meistens mehreren verschiedenen Fettsäuren unter Bevorzugung von C₁₆ und C₁₈ (Palmitin- bzw. Stearinsäure) (43,21).

Es folgen dann Phosphatide, Triglyceride (Neutralfette) und freie Fettsäuren, außerdem in geringen Konzentrationen Glycosphingolipide, Steroidhormone, Gallensäuren, Carotinoide und fettlösliche Vitamine (49).

Die Phospholipide (Phosphatide) treten besonders reichlich in aktiven Geweben auf wie Gehirn und Nerven.

Es ist dennoch bemerkenswert, daß sie im Depotfett fehlen.

Zusammen mit den freien unveresterten Fettsäuren, die nur 2-3% der Gesamtlipide ausmachen trotz ihrer hohen Transportrate von mehr als 25 g in der Stunde bei einer Halbwertszeit von nur 2-3 Minuten, haben die Phosphatide, welche am Transport und der Oxylation der Fettsäuren beteiligt sind, keine pathogenetische Bedeutung für die Hyperlipidämien. Von den im Plasma vorkommenden Lipiden sind nur das Cholesterin und die Triglyceride von ausschlaggebender Bedeutung, wobei man heute dazu neigt, auf Grund neuerer Ergebnisse beide quantitativ eng korrelierte Lipidfraktionen nur in Assoziation zueinander mit der Entstehung degenerativer kardiovaskulärer Erkrankungen in Zusammenhang zu bringen, wenn auch die prospektive Framingham-Studie erhöhten Cholesterinwerten den Vorrang einräumt. Man wird eine Hyperlipidämie deshalb durch Konzentrationsbestimmung sowohl der Triglyceride als auch des Gesamtcholesterins ohne Berücksichtigung der Gesamtlipide und allen anderen Parametern diagnostizieren können (27,28,47,62).

1. 1. 1. Klinische Bedeutung der Hyperlipidämien.

Es sind noch etwa weitere 30 verschiedene Fettstoffwechselstörungen bekannt, unter denen aber gerade die Hyperlipoproteinämien deshalb solche Beachtung finden, weil sie, wie schon erwähnt, bei der Entwicklung einer Arteriosklerose, insbesondere der Koronarsklerose eine zentrale Rolle spielen.

Wie hinlänglich bekannt ist, sind Herz-Kreislauf-erkrankungen weit verbreitet und mit eine der Haupt-todesursachen der Bevölkerung. Im Jahre 1968 waren es mehr als 45 000 Todesfälle an Perzinfarkt. Die WHO gab 1971 sogar einen Weltdurchschnitt von 45,5% an der Gesamttodesrate an. Deshalb verwundert es nicht, wenn man bei ca. 15% der Bevölkerung eine Hyperlipidämie verschiedenen Ausmaßes antrifft, wobei allerdings auch die sekundären symptomatischen Hyperlipidämien mit einbezogen sind. Häufiger sind dennoch die primären Formen (36,50).

Die Untersuchungen in Framingham und Tecumseh ergaben einen gesicherten Zusammenhang zwischen Serumcholesterin und Befallshäufigkeit an Herzinfarkten, welche um ein Drittel höher liegt bei Werten um 270 mg% als bei den für Erwachsene aller Altersstufen angesehene Normalwert von 220 mg%. Ab 250 mg% beobachtet man schon eine Verdoppelung des Risikos. Einige Autoren geben sogar schon ein 2,6 mal höheres Arterioskleroserisiko mit Anstieg des Cholesterinwertes von 200 mg% auf 240 mg% an. Diese Angaben erscheinen zweifelsohne einen Idealwert zu rechtfertigen, der unter 200 mg% liegt (6,27,28,62).

Bei all diesen Überlegungen dürfen natürlich die Triglyceride, deren oberer Normwert nüchtern 150 mg% beträgt, als Zweitkomponente zur Beurteilung des Risikofaktors nicht außer Acht gelassen werden. Zusätzlich sollte das Alter mit einkalkuliert werden, da der Cholesterinspiegel bei beiden Geschlechtern mit zunehmendem Alter ansteigt und beim Mann bis etwa zum 45. Lebensjahr höher liegt als bei der Frau, welche nach diesem Alter den höheren Cholesterinspiegel aufweist.

Die Hyperlipidämien, deren gefährlichste Auswirkungen erst spät klinisch manifest werden, und diese Erkrankungen daher anfänglich oft symptomlos erscheinen, zeigen außer den eben dargelegten Krankheitszeichen

noch reichhaltige, wenn auch in einem geringen Prozentsatz vorhandene klinische Erscheinungen, die im einzelnen aus folgender Zusammenstellung ersichtlich sind.

Symptome

Übergewicht
Xanthome (tuberöse, ruptiv)
Sehnenxanthome
Xantelasmen
gelbe Handlinien
Arcus lipoides corneae
Lipemia retinalis
Unklare abdominale Krisen
Rezidivierende Pankreatitis
Unklare Hepatosplenomegalie
Hyperuricämie
Hypertonie
Milchiges o. trübes Serum

Krankheiten

Herzinfarkt
Angina pectoris
Claudicatio intermittens
Zerebrale und periphere Durchblutungsstörungen

Sekundäre symptomat. Hyperlipidämien

Häufig : Diabetes mellitus
Gicht
Nephrotisches Syndrom
Hypothyreose
Gravidität
Cholestatische Hepatosen

Seltener : Alkoholische Hepatitis (Zieve-Syndrom)
Alkoholische Leberzirrhose
Pankreatitis
Cushing-Syndrom
Alkoholabusus ohne manifeste Leber-
erkrankung

Selten : Glycogenspeicherkrankheit
Primär biliäre Leberzirrhose
Plasmacytom
Basophiles Adenom
Idiopathische Hyperkalzämie
Häreglobulinämie

Die Tabelle enthält auch diejenigen Erkrankungen, in deren Gefolge Fettstoffwechselstörungen sekundär auftreten. Sie sind deshalb von Bedeutung, weil sich durch Behandlung der Grundkrankheiten die erhöhten Lipidspiegel von selbst wieder normalisieren, weshalb eine weitere Differenzierung dieser sekundären symptomatischen Hyperlipidämien keinen therapeutischen Nutzen mitsich bringt und deshalb überflüssig ist.

Anders verhält es sich bei den primären idiopathischen Hyperlipidämien, bei denen eine Aufteilung in verschiedene Typen für die Klinik und Therapie wichtig ist. Verschiedene rein empirisch gewonnene Parameter erlauben folgende Definition einer behandlungsbedürftigen Hyperlipidämie: Eine Hyperlipidämie bzw. Hyperlipoproteinämie liegt vor, wenn bei wenigstens drei aufeinander-

folgenden Bestimmungen im Abstand von jeweils zwei Wochen nach mindestens 12 Stunden Nüchternheit bei unveränderten EBgewohnheiten eine Erhöhung der Plasmalipide bzw. -lipoproteine vorliegt, welche den aus Erfahrungen willkürlich festgesetzten Normbereich überschreitet (36,62).

Cholesterin	mg%	Normal: bis zu 220	mg%
		Grenzfall: 220 - 260	mg%
		Behandlungsbedürftig: ab 260	mg%
Triglyceride	mg%	Normal: bis zu 150	mg%
(nüchtern)		Grenzfall: 150 - 180	mg%
		Behandlungsbedürftig: ab 180	mg%

Im allgemeinen können als obere Normgrenze für Erwachsene folgende Werte in mg% angesehen werden:

Cholesterin	Männer: $200 + \text{Alter in Jahren}$
	Frauen: $180 + \text{Alter in Jahren (bis Klimakterium)}$. Nach Klimakterium wie Männer.
Triglyceride	Männer: $100 + \text{Alter in Jahren}$
	Frauen: $80 + \text{Alter in Jahren}$
Phosphatide	wie Cholesterin
B-Lipoproteine	$350 + 2 \text{ mal Alter in Jahren}$

1. 1. 2. Typeneinteilung der Hyperlipidämien.

Eine einigermaßen klare Unterteilung in entsprechende Typen beruht auf physikalische und chemische Unterschiede der Lipoproteine, welche Molekülgröße, Dichte, spezifisches Gewicht, elektrophoretische Beweglichkeit, die Relation von Protein- zu Lipidanteil, Lipidzusammensetzung und die Eiweißkomponenten umfassen.

Mit Hilfe dieser Eigenschaften, die, wie anfangs erwähnt, eine gewisse Bedeutung in der Pathogenese der verschiedenen Hyperlipidämien haben, lassen sich die Lipoproteine einzeln isolieren. So ist eine Klassifizierung zur Zeit am besten durch Betrachtung des Lipoproteinemusters nach elektrophoretischer Auftrennung möglich. Entsprechend erhält man vier Lipoproteinfraktionen: Chylomikronen, die am Start der Elektrophorese liegen bleiben, β -Lipoproteine, prä- β -Lipoproteine, auch α -2-Lipoproteine genannt und α -Lipoproteine. Die Benennung geschieht in Anlehnung an die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißelektrophorese. Darüber hinaus ist zur Bestimmung des Typs III - man unterteilt nach Frederickson die Hyperlipidämien in 5 bzw. 6 verschiedene Typen und versieht sie der Einfachheit halber mit römischen Ziffern - vor der Elektrophorese eine Lipoproteintrennung mit Hilfe der Ultrazentrifuge unerlässlich. Die endgültige Diagnose dieses Typs liefert der Nachweis eines sogenannten floating β -lipoprotein, das bei einer Dichte von weniger als 1,006 im Bereich der β -Lipoproteinbande wandert, die eine Dichte von 1,006 bis 1,063 aufweist. In der Dichteklasse unter 1,006 wandern normalerweise die Chylomikronen und prä- β -Lipoproteine (25,26,50,75,85). Eine andere Bezeichnung für die Lipoproteinklassen liefert die durch die Ultrazentrifuge erreichte Trennung in Dichteklassen: VLDL = very low density lipoproteins (Dichte: 1,006); LDL = low density lipoproteins

(Dichte: 1,006 - 1,063), HDL = high density lipoproteins (Dichte: 1,063 - 1,21) (32,49).

Wenn die Dichte abnimmt, nimmt die Molekülgröße zu, bei der von einer bestimmten Größe an der Tyndall-Effekt auftritt und das Serum sich trübt. Mit zunehmender Molekülgröße verschiebt sich außerdem das Fett-Eiweiß-Verhältnis zugunsten des Lipidanteils. Das Protein-Lipid-Verhältnis ist in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben.

	Eiweißgehalt	Fettgehalt
Chylomikronen	2%	98%(überwiegend TG)
B-Lipoproteine	12%	88%(" Chol)
prä-B-Lipoproteine (= α_2 -Lipoproteide)	20%	80%(" TG)
α -Lipoproteine	50%	50%(TG, Chol., Phosphatide)

Es entsprechen nun folgende Dichteklassen den entsprechenden Definitionen nach elektrophoretischer Trennung:

1.) Lipoproteine mit sehr niedriger

Dichte ($<1,006$) = VLDL-

Fraktion; sie haben einen

Flotationskoeffi-

zienten von $S_f = 20 - 400$

und entsprechen den prä-

B-Lipoproteinen, die

Chylomikronen mit eingeschlossen.

2.) Lipoproteine mit

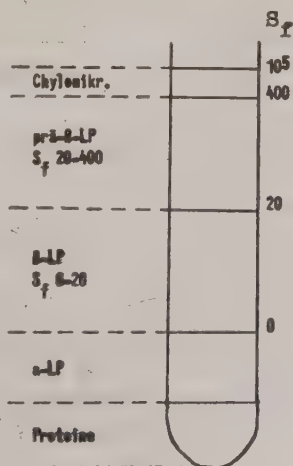
niederer Dichte (1,006-

1,063) = LDL-Fraktion;

sie haben einen Flota-

tionskoeffizienten von

$S_f = 0 - 20$ und entsprechen



den β -Lipoproteinen.

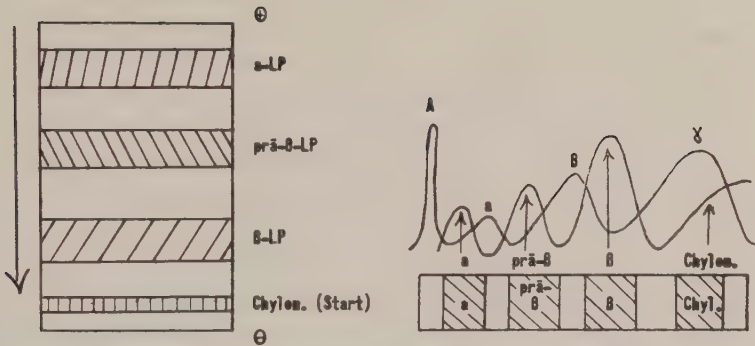
3.) Lipoproteine höherer Dichte (1,063 - 1,21) =
HDL-Fraktion; sie haben einen Flotationskoeffizienten
von $d_{400} = 400 - 10^5$ und entsprechen den α -Lipoproteinen.
Alle vier Lipoproteinklassen (Chylomikronen, prä- β -
(VLDL), β -(LDL) und α -(HDL)-Lipoproteine) transpor-
tieren Cholesterin, Triglyceride und Phospholipide.
Die β -LP enthalten viel Cholesterin und Chylomikronen,
die prä- β -LP dagegen viel Triglyceride.

Eine teilweise Isolierung der Plasmalipoproteine ist
auch durch verschiedene Ausfällungsmethoden möglich
z.B. mit Heparin oder Dextransulfat in Anwesenheit
der Kationen Mg^{++} und Mn^{++} . Andere mögliche Methoden
wären Trübungsmessung im Plasma, immunochemische Be-
stimmung, Densitometrie auf Elektrophoresestreifen
und Nomogramme oder Formeln zur Schätzung bestimmter
Lipoproteine wenn z.B. Triglyceride und andere Para-
meter schon bestimmt sind (4,47).

Nach Fredrickson und Lees sind 5 bzw. 6 abgrenzbare
Typen der Hyperlipidämien bekannt:

- 1.) Chylomikronen = Typ I (Hyperchylomikronämie)
- 2.) β -Lipoproteine = Typ II (Hyper- β -Lipoprotein-
ämie). Dieser Typ ist nochmals unterteilt in
Typ IIa (Plasma klar) und Typ IIb (Plasma leicht
getrübt).
- 3.) Abnormes prä- β -Lipoprotein = Typ III (broad- β -
disease).
- 4.) Prä- β -Lipoproteine = Typ IV (Hyper-prä- β -Lipo-
proteinämie).
- 5.) Chylomikronen + prä- β -Lipoproteine = Typ V
(Hyper-prä- β -Lipoproteinämie und Hyperchol-
esterinämie).

Bei den α -Lipoproteinen wurde bis jetzt noch keine
absolute Hyper- α -Lipoproteinämie festgestellt (27).



Schema der Lipoproteinbande in der
Lipidelektrophorese

Typ I (Hyperchylomikronämie): Die Chylomikronen sollten nach ca. 12-stündigem Fasten im Plasma nicht mehr nachweisbar sein, was für diese Form der Fettstoffwechselstörung nicht zutrifft. Da die Chylomikronen überwiegend aus Triglyceriden bestehen, ist das Plasma lipämisch getrübt. Charakteristisch ist das sogenannte Abrahmen der Chylomikronen in Form einer deutlichen Schicht an der Oberfläche nach Aufbewahrung im Kühlschrank. Die Phase darunter ist klar. Das Verhältnis TG:Chol beträgt ca. 8:1 und ist nur für diese Form typisch. Es ist eine äußerst seltene Stoffwechselstörung.

Typ II (Hyper-β-Lipoproteinämie): Hier liegt eine Störung vor, die mit einer Vermehrung der β-Lipoproteinfraktion einhergeht. Das Plasmacholesterin ist als wesentlicher Bestandteil dieser Fraktion erhöht. Eine weitere Differenzierung in Typ IIa und Typ IIb war aufgrund der Feststellung möglich, daß im Gegensatz zu Typ IIa zusätzlich außer einer reinen Cholesterinerhöhung der β-Lipoproteinfraktion auch eine leichte Triglyceriderhöhung der prä-β-Lipoproteine in Typ IIb festzustellen war. Das Plasma erscheint bei Typ IIa

klar wegen der Löslichkeit der β -Lipoproteine (TG sind normal), bei Typ IIb klar oder leicht getrübt je nach Vermehrung der prä- β -Lipoproteine (TG sind erhöht). Das Verhältnis Chol: TG ist normalerweise größer als 1,5. Diese Form tritt relativ häufig auf und ist die gefährlichste aller Hyperlipidämien.

Typ III (broad- β -disease): Dieses Lipoprotein ist in seiner Zusammensetzung sichtlich verändert. Es tritt ein beim Gesunden nicht vorkommendes atypisches β -Lipoprotein, eine Untergruppe der prä- β -Lipoproteide (S_f 20 - 100), auf, die übermäßig hohe Triglyceridmengen transportiert. Aufgrund seiner Dichte von weniger als 1,006 verhält es sich in der Ultrazentrifuge wie das sog. "very low density lipoprotein" (VLDL) = prä- β -Lipoprotein (Dichte < 1,006). In der Elektrophorese wandert es allerdings im β -Bereich, wegen seiner veränderten Wanderungsgeschwindigkeit aber als breite β -Bande. Normalerweise haben die β -Lipoproteine eine Dichte von 1,006 bis 1,063. Exakt nachweisen läßt sich dieser Typ letztlich nur durch die Untersuchung in der präparativen Ultrazentrifuge unter gleichzeitiger Anwendung der Elektrophorese oder durch die Bestimmung in der analytischen Ultrazentrifuge (25). Da eine Ähnlichkeit mit der Lipidkonstellation des Typs IIb besteht, sollte auf eine genaue Analyse geachtet werden, um Verwechslungen zu vermeiden.

Cholesterin und Triglyceride sind mit einem Verhältnis von 1:1 gleichmäßig erhöht. Die Beschaffenheit des Plasmas hängt wiederum von der Triglyceridkonzentration ab. Es kann daher klar, trübe oder sogar milchig-trüb sein. Es ist die seltenste Form.

Typ IV (Hyper-prä- β -Lipoproteinämie): Bei dieser Stoffwechselerkrankung zeigt sich ein Mißverhältnis zwischen Synthese und Abbau von endogenen Triglyceriden. Dies kommt zum Ausdruck in einer zu hohen prä- β -Lipoproteinkonzentration. Es wird eine Überproduktion der TG-Fraktion

diskutiert. Das Plasmacholesterin ist normal oder wenig erhöht. Als Faustregel kann gelten, daß pro 5 mg Triglyceriderhöhung etwa 1 mg erhöhte Cholesterinwerte gefunden werden (Verhältnis TG:Chol = 5:1) (25). Die Störung ist durch Kohlenhydrate induzierbar. Je nachdem, wie stark sich die Erkrankung ausprägt, ist das Plasma klar bis milchig-trübe. Ein Aufrahmen des Plasmas durch Stehenlassen läßt sich nicht herbeiführen. Eine Unterscheidung ist hierdurch von Typ I und Typ V möglich. Diese Hyperlipidämie tritt am häufigsten auf.

Typ V (Hyper-prä- β -Lipoproteinämie und Hyperchylomikronämie): Besteht elektrophoretisch eine Mischform aus Typ I und Typ IV, so liegt diese Form der Fettstoffwechselstörung vor. Es handelt sich also um eine gemischte exogen-endogene Hyperlipidämie mit vorwiegender Dominanz der Triglyceridfraktion und mäßig erhöhten Cholesterinwerten. Als exogene Komponente sind die Chylomikronen anzusehen, während der endogene Faktor die erhöhte prä- β -Lipoprotein-Konzentration darstellt. Das Verhältnis Chol: TG wird allgemein größer als 0,15 und kleiner als 0,6 angegeben. Mit anderen Worten das Cholesterin ist erhöht, die Triglyceride massiv erhöht. Das Plasma ist lipämisch und rahmt nach längerem Stehen auf. Dieser Typ ist selten.

Bei allen eben genannten Hyperlipidämietypen spielt die Erbllichkeit eine gewisse Rolle. Mit Abstand am häufigsten werden die Fettstoffwechselstörungen durch Typ IIa, IIb und vor allem durch Typ IV verursacht. Hierbei übertreffen die primären idiopathischen Hyperlipidämien bei weitem die sekundären symptomatischen Formen an Häufigkeit (50).

2. Bedeutung des Pentosephosphatzyklus und seine Bedeutung für den Fettstoffwechsel.

Es hat allen Experimentierern in mehr oder weniger grobem Ausmaß eine kalorieninduzierbarkeit, insbesondere durch Kohlenhydrate, festzustellen war, ließen neuere Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel bezüglich des Pentosephosphatzyklus einen Zusammenhang zwischen letzterem und der Pathogenese der Hyperlipidämien vermuten.

Im Pentosephosphatzyklus (PPC), auch "Warburg-Dickens-Horwath-Reaktion" genannt, wird die Glucose unter Beteiligung von reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) abgebaut. Hierbei ist der erste Schritt, nämlich die Oxydation bzw. Dehydrierung an C-1 der auf höhere Reaktionsstufe gebrachten Glucose-6-phosphat von ausschlaggebender Bedeutung. Die G-6-PDH, die als Schlüsselenzym des PPC diesen Schritt einleitet, bedingt durch Steigerung seiner Aktivität oder aber durch ungenügende Hemmung seinerseits eine beträchtlich größere Umsatzrate im PPC. Es kommt so zu einer verstärkten Produktion von $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Auch der zweite Schritt ist, nachdem das entstandene 6-P-Glucosylacton in Gluconsäure-6-P überführt und letzteres zu Ribulose-5-P dehydriert wurde, mit der Bildung von NADPH verbunden.

Wird die Bedeutung des oxydativen Glucoseabbaues im PPC durch die besonders hohe Aktivität der G-6-PDH ($= 31,0 \pm 10,5 \mu\text{mol/Minotrat/Std./mg Stickstoff}$) und Phosphogluconat-Dehydrogenase im Fettgewebe, der beiden ersten Enzyme in diesem Zyklus (55). Hier findet sich eine wichtige Verknüpfung zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel, in den im PPC ein großer Teil des zur Fettsynthese benötigten NADPH bereitgestellt wird. Nachdem der eigentliche Oxydationsprozeß abgeschlossen ist, können die gebildeten Pentosephosphate nun auf kompliziertem Wege mit Hilfe der Trans-

diskutiert. Das Plasmacholesterin ist normal oder wenig erhöht. Als Faustregel kann gelten, daß pro 5 mg Triglyceriderhöhung etwa 1 mg erhöhte Cholesterinwerte gefunden werden (Verhältnis TG:Chol = 5:1) (25). Die Störung ist durch Kohlenhydrate induzierbar. Je nachdem, wie stark sich die Erkrankung ausprägt, ist das Plasma klar bis milchig-trübe. Ein Aufrahmen des Plasmas durch Stehenlassen läßt sich nicht herbeiführen. Eine Unterscheidung ist hierdurch von Typ I und Typ V möglich. Diese Hyperlipidämie tritt am häufigsten auf.

Typ V (Hyper-prä- β -Lipoproteinämie und Hyperchylomikronämie): Besteht elektrophoretisch eine Mischform aus Typ I und Typ IV, so liegt diese Form der Fettstoffwechselstörung vor. Es handelt sich also um eine gemischte exogen-endogene Hyperlipidämie mit vorwiegender Dominanz der Triglyceridfraktion und mäßig erhöhten Cholesterinwerten. Als exogene Komponente sind die Chylomikronen anzusehen, während der endogene Faktor die erhöhte prä- β -Lipoproteinkonzentration darstellt. Das Verhältnis Chol: TG wird allgemein größer als 0,15 und kleiner als 0,6 angegeben. Mit anderen Worten das Cholesterin ist erhöht, die Triglyceride massiv erhöht. Das Plasma ist lipämisch und rahmt nach längerem Stehen auf. Dieser Typ ist selten.

Bei allen eben genannten Hyperlipidämietypen spielt die Erblichkeit eine gewisse Rolle. Mit Abstand am häufigsten werden die Fettstoffwechselstörungen durch Typ IIa, IIb und vor allem durch Typ IV verursacht. Hierbei übertreffen die primären idiopathischen Hyperlipidämien bei weitem die sekundären symptomatischen Formen an Häufigkeit (50).

2. Der Pentosephosphatzzyklus und seine Bedeutung für den Fettstoffwechsel.

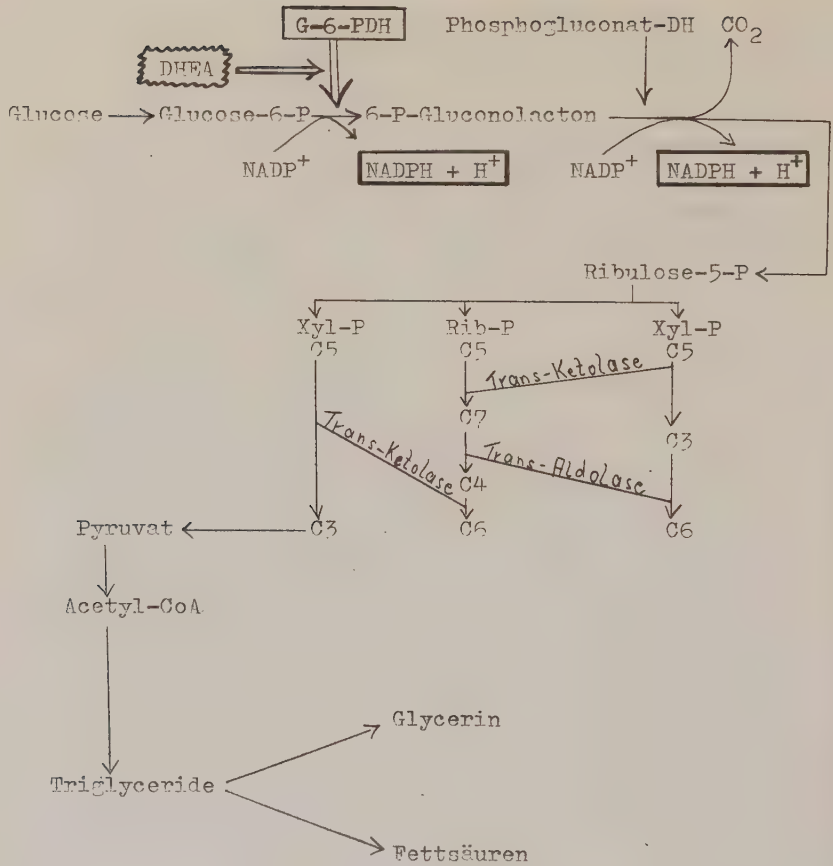
Da bei allen Hyperlipidämien in mehr oder weniger großem Ausmaß eine Kalorieninduzierbarkeit, insbesondere durch Kohlenhydrate, festzustellen war, ließen neuere Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel bezüglich des Pentosephosphatzzyklus einen Zusammenhang zwischen letzterem und der Pathogenese der Hyperlipidämien vermuten.

Im Pentosephosphatzzyklus (PPC), auch "Warburg-Dickens-Horecker-Schema" genannt, wird die Glucose unter Bereitstellung von reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) abgebaut. Hierbei ist der erste Schritt, nämlich die Oxydation bzw. Dehydrierung an C-1 der auf höhere Reaktionsstufe gebrachten Glucose-6-phosphat von ausschlaggebender Bedeutung. Die G-6-PDH, die als Schlüsselenzym des PPC diesen Schritt einleitet, bewirkt durch Steigerung seiner Aktivität oder aber durch ungenügende Hemmung seinerseits eine beträchtlich größere Umsatzrate im PPC. Es kommt so zu einer verstärkten Produktion von $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Auch der zweite Schritt ist, nachdem das entstandene 6-P-Gluconolacton in Gluconsäure-6-P überführt und letzteres zu Ribulose-5-P dehydriert wurde, mit der Bildung von NADPH verbunden.

Für die Bedeutung des oxydativen Glucoseabbaues im PPC spricht die besonders hohe Aktivität der G-6-PDH ($= 31,0 \pm 10,5 \mu \text{ Mol/Substrat/Std./mg Stickstoff}$) und Phosphogluconat-Dehydrogenase im Fettgewebe, der beiden ersten Enzyme in diesem Zyklus (55). Hier findet sich eine wichtige Verknüpfung zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel, in dem im PPC ein großer Teil des zur Fettsynthese benötigten NADPH bereitgestellt wird. Nachdem der eigentliche Oxydationsprozeß abgeschlossen ist, können die gebildeten Pentosephosphate nun auf kompliziertem Wege mit Hilfe der Trans-

Ketolase- und der Aldolasereaktion wieder unter Bildung von Triosen in Hexosen verwandelt werden, die aufs Neue in den PPC eingeschleust werden können. Andererseits kondensieren die Triosen zu Hexosen oder werden im EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema weiter glykolytisch über Pyruvat und Lactat abgebaut bis zum Acetyl-CoA, welches wiederum als Ausgangssubstanz für die Fettsäuresynthese wichtig ist. Im Gegensatz zum glykolytischen anaeroben Abbau der Kohlenhydrate, hier speziell des Glycogens über G-6-Phosphat, der zur Energiegewinnung benötigt wird, ist der Glucoseabbau über den PPC nur für die Bildung metabolischer Zwischenprodukte und den für viele reduktive Biosynthesen unentbehrlichen Wasserstoffdonator in Form des reduzierten NADPH verantwortlich. Liegt eine Steigerung des PPC und somit ein vergrößertes Angebot an NADPH vor, so ist hiermit auch eine vermehrte Fettsäuresynthese auf der einen Seite und vermehrter Cholesterinbildung auf der anderen Seite verbunden. Dieses zeigt sich klinisch in Form einer Hyperlipidämie oder in einer gewissen Obesität, die auf eine beschleunigte Synthese im Fettdepot hinweist, da die Biosynthese der Fette vorerst von der Gegenwart von Fettsäuren im Fettgewebe abhängig ist (79,80). Ebenfalls ist die Nukleinsäuresynthese über Ribose und Desoxyribose gesteigert, was in der Pathogenese der Psoriasis eine Rolle spielt (11,29,69,71).

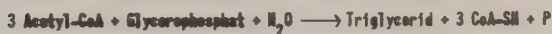
Die Fettsynthese hängt letztlich in großem Maße ab von der Aktivität der G-6-PDH, des rate-limit-enzyme des PPC (79).



Beziehung zwischen Glucosestoffwechsel
und Fettsäure- bzw. Triglyceridsynthese

2. 1. Fettsäuresynthese.

Wenn genug Nicotin-adenin-dinucleotid-phosphat, was bei Biosynthesen den nötigen Wasserstoff oder allgemein "Reduktionsäquivalente" liefert, zur Verfügung steht, so kann Acetyl-CoA, die im aeroben Kohlenhydratabbau durch oxydative Dekarboxylierung des Pyruvats entsteht und größtenteils im Zitronensäurezyklus verbraucht wird, in Fett verwandelt werden, da es Ausgangssubstanz für die Fettsäuresynthese ist, die mit einer Carboxylierung von Acetyl-CoA zu dem besonders reaktionsfähigem Malonyl-CoA eingeleitet und durch sukzessive Kettenverlängerung fortgesetzt wird. Schließlich kondensieren die CoA-Derivate langkettiger Fettsäuren mit alpha-Glycerophosphat, das aus den Triosephosphaten gebildet werden kann, zu Triglyceriden.



Die Startreaktion beginnt mit der Übertragung eines Acetylrestes vom Acetyl-CoA und eines Malonylrestes vom Malonyl-CoA auf eine reaktive "periphere" bzw. zweite "zentrale" HS-Gruppe des Synthetasekomplexes (Lynen 1966). Es folgt nun eine Reihe enzymatischer Reaktionen, die im einzelnen sind:

- 1.) Transfer der beiden Säurereste auf die "zentrale" bzw. "periphere" SH-Gruppe des Multi-Enzym-Komplexes unter Bildung eines Malonyl- und Acetyl-Enzyms.
- 2.) Übertragung und Angliederung des an der "peripheren" SH-Gruppe gebundenen Malonylrestes unter Abspaltung von CO_2 . Die Kondensation findet am α -C der besonders reaktionsfähigen H_2C -Gruppe des Malonylrestes statt. Das um C_2 -Einheiten verlängerte Reaktionsprodukt bleibt weiter an der "zentralen" SH-Gruppe gebunden.

3.) Der nun folgende Vorgang benötigt NADPH, das den Prozeß in Richtung Synthese weitertreibt, nämlich die Hydrierung des entstandenen Acetacetylthioesters, einer β -Ketosäurederivat, zum β -Hydroxyderivat.

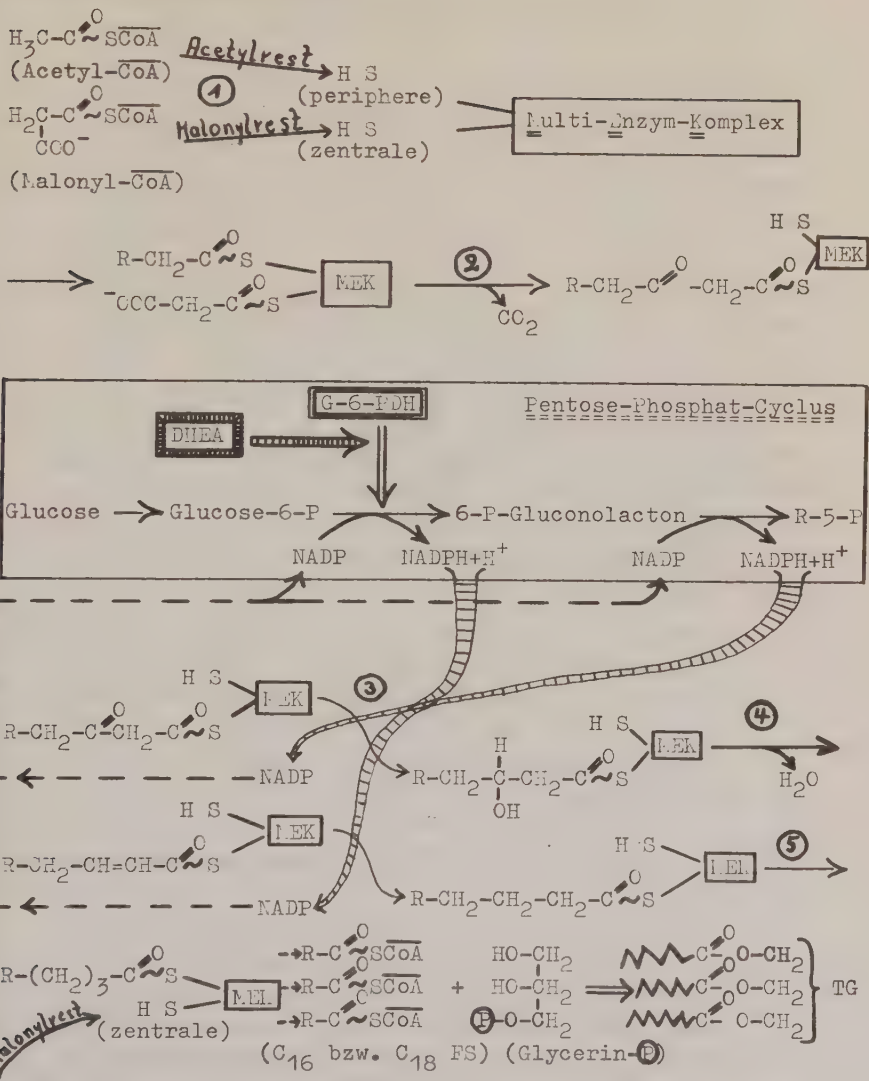
4.) Unter Bildung einer Doppelbindung wird durch Wasserabspaltung die β -Hydroxygruppe entfernt. Die Reduktion dieser Doppelbindung zu einem Acylrest erfordert erneut das aus dem PPC bereitgestellte NADPH.

5.) Schließlich wird der verlängerte Acylrest wieder rückübertragen auf die erste "periphere" Sulfhydrylgruppe. Da jetzt auch die "zentrale" SH-Gruppe wieder frei wird, kann der nächste Malonylrest vom Malonyl-CoA an diese Gruppe gebunden werden, womit der Zyklus von neuem durchlaufen wird, bis bei einer endgültigen Kettenlänge von C_{16} oder C_{18} der Acylrest auf Coenzym A übertragen und als Palmityl- bzw. Stearyl-CoA freigesetzt wird (43,55).

Um eine Verlängerung der Kohlenstoffkette um eine C_2 -Einheit zu erreichen, müssen also 1 Malonyl-CoA und 2 NADPH aufgebracht werden. Zwei Mol Fettsäure werden nun in Form der aktivierten Acyl-CoA-Derivate mit Glycerinphosphat verestert zum Diglyceridphosphat, das anschließend dephosphoryliert und nach Reaktion mit einem weiteren Mol Acyl-CoA als Triglycerid in Form von Depotfett abgelagert wird.

In dem Schema auf Seite 19 ist der wichtige Verknüpfungspunkt zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel durch dicke schwarze Pfeile gekennzeichnet, wo im PPC das zur Fettsäuresynthese benötigte NADPH über den oxydativen Glucoseabbau vorwiegend von der G-6-PDH-Aktivität abhängig ist.

Fettsäure-Synthese-Cyclus

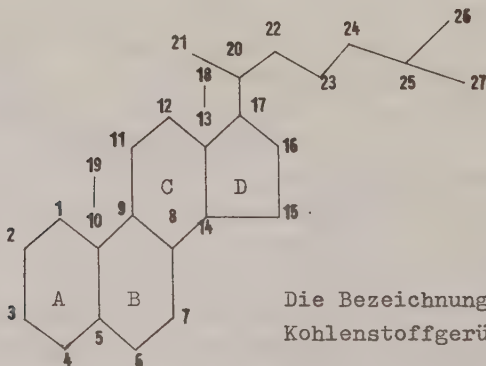


Schematische Darstellung der wichtigsten Verknüpfungspunkte zwischen Kohlenhydratstoffwechsel und Fettstoffwechsel.

Die dicken schwarzen Pfeile zeigen den Weg des im PFC entstandenen und zur Fettsäuresynthese benötigten NADPH. Die einzelnen Schritte der Fettsynthese sind in angegebener Reihenfolge im Text erläutert.

3.=====Dehydroepiandrosteron und sein Metabolis-
mus mit Wirkung auf die Glucose-6-PDH.
=====

Was schon seit 1960 durch in vitro-Versuche von Marks und Banks bekannt ist und in späteren Untersuchungen bestätigt und bewiesen werden konnte, ist die Tatsache, daß die G-6-PDH, die bei Mensch und Tier in fast jedem Gewebe vorkommt - unter anderem auch besonders reichlich in Blutzellen (Normwert: $12,9 \pm 1,8 \text{ U}/10^{11}$ Erys) und im Fettgewebe (15,56) - unabhängig von seiner Herkunft durch zahlreiche Steroidhormone substratspezifisch, nicht aber organspezifisch gehemmt wird. Eine ausgeprägte Hemmwirkung zeigten z.B. von den C_{21} -Steroiden das Pregnenolon, von den C_{17} -Steroiden das DHEA(45%) (9). Oertel konnte zeigen, daß die optimale Hemmwirkung außer an die Oxogruppe in C_{17} oder C_{20} auch an eine äquatoriale β -Hydroxygruppe in C_3 , sowie an eine möglichst planare Anordnung der Ringe A und B gebunden ist.

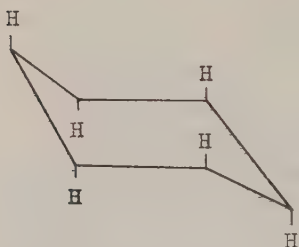


Die Bezeichnung des
Kohlenstoffgerüsts

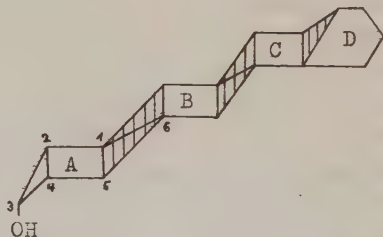
Da aber alle Hormone nicht in ausreichender Konzentration als freie Steroide im Plasma auftreten, sondern vorwiegend in ihren auf die Hemmung inaktiven Verbindungen als Sulfate oder Glucuronide, erwies sich das DHEA, welches nach Oertel das mit einer

täglichen Produktionsrate von 10 - 40 mg und einer Konzentration von 150 (Frauen) bis 250 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (Männer) mengenmäßig wichtigste Steroid ist und fast ausschließlich als Sulfokonjugat im peripheren Plasma vorliegt als der entscheidende Bremsfaktor für die G-6-PDH (65). Durch eine 10^{-5} M Konzentration von synthetischem DHEA-Sulfatid, entsprechend etwa der physiologischen Plasmakonzentration von sulfokonjugiertem DHEA, konnte nämlich eine 70 - 85% ige Hemmung des Enzyms bewirkt werden (71). Physiologische Konzentrationen von freiem DHEA, welche höchstens 1% bzw. 0,5% der Gesamtmenge zirkulierenden DHEA ausmacht, wiesen dagegen nur eine geringe Hemmung des Enzyms auf. Bei dem Sulfo-Konjugat des DHEA handelt es sich nicht um das inaktive hydrophile DHEA-Sulfat, sondern um das lipophile Steroid-Sulfatid, das auf Grund dieser Eigenschaften biologische Membranen zu penetrieren vermag und möglicherweise dadurch seine nicht-kompetitive Hemmwirkung ausübt. Dieser aus parenteral verabreichtem ohne vorherige Hydrolyse direkt metabolisiertem DHEA-Sulfat schnell entstehende Steroid-Ester einer Diglycerid-Schwefelsäure unterliegt der Hydrolyse wie das freie Steroid mit Bildung derselben Stoffwechselprodukte (65). Das endogene Sulfatid ist somit als spezifischer Inhibitor bei physiologischer Plasmakonzentration als ausreichender Regulator des Enzyms anzusehen. Als Vorstufen des DHEA zählen das Pregnenolon über 17-OH-Pregnenolon. Die Überführung in Sulfat geschieht hauptsächlich in der Zona reticularis der NNR. DHEA selbst ist Vorläufer von Androstendion, Androsteron und Ätiocholanolon, um die wichtigsten Metaboliten aufzuzählen (20,35,38,65). Es hat seinen Namen von der chemischen Konfiguration erhalten: Dehydro = Entstehung einer Doppelbindung unter Abspaltung zweier H^+ ($\text{CH}-\text{CH} \rightarrow \text{C}=\text{C}$), Epi = Trans-Stellung

zum Bezugssteroid, d.h. Substituenten auf entgegengesetzter Seite (α -Anstellung). Unter Berücksichtigung der perspektiven Darstellung ließe sich das DHEA folgendermaßen darstellen: möglichst planare Anordnung der Ringe A und B, äquatoriale 3β -Hydroxy-Gruppe in C_3 und Sesselform.



Äquatoriale Substituenten,
Sesselform



Gestreckte = plane Anordnung von Ring A, B, C und D

Sonka und Gregorova haben festgestellt, daß bei Fettsüchtigen eine niedere Ausscheidungsquote von DHEA vorliegt als bei Normalpersonen. Andere Untersuchungen ergaben eine Verminderung der G-6-PDH-Aktivität bei peroraler Verabreichung von DHEA-Sulfat. Die Befunde von Certel könnten dies bestätigen, wobei zusätzlich gezeigt werden konnte, daß durch exogene Zufuhr von DHEA-Sulfat DHEA und seine Metaboliten im Blut anstiegen. Ihre Ausscheidung im Harn war ebenfalls erhöht. Auch Lopez verzeichnete mit prozentualer Zunahme des Übergewichtes einen Anstieg der G-6-PDH, was in reziprokem Verhältnis zur DHEA-Ausscheidung im Urin stand. Bei gesunden Personen stellte er dagegen keine Aktivitätsänderungen in den Erythrozyten nach Gabe von DHEA fest (57).

In all diesen Untersuchungen konnte übereinstimmend festgestellt werden, daß mit einer verstärkten Lipogenese die erwähnten Vorgänge verbunden sind.

Da eine erniedrigte DHEA-Ausscheidung in Form fast ausschließlicher Sulfat-Konjugation für einen Mangel an DHEA im Blut spricht, so könnten hier durch exogene Zufuhr von DHEA-Sulfat normale Konzentrationsverhältnisse erreicht werden. Dies wäre möglich, da Steroid-Sulfatid, Steroid-Sulfat, freies Steroid und Steroid-Glucuronid in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen. Das DHEA-Sulfat besitzt zwar keine Aktivitätshemmung, geht aber in das alle anderen mengenmäßig übertreffende lipophile DHEA-Sulfatid über, das eine ausgeprochene Hemmwirkung aufweist.

Hormonell bedingte klinische Veränderungen treten nicht auf, weil das Verhältnis der sulfokonjugierten Androgene und Östrogene, als dessen Präkursor das DHEA gilt, trotz ihres Anstieges nicht wesentlich beeinflusst wird (65). Von den Östrogenen aber ist andererseits bekannt, daß sie einen gewissen Einfluß auf den Cholesterin- und Triglyceridspiegel haben (16,18,24,42,49,53,87).

Dennoch ist es erwähnenswert, daß bei Frauen mit Fett-sucht häufig Menstruationsstörungen auftreten (73,80). Bei zahlreichen oft mit Fettstoffwechselstörungen in Zusammenhang stehende Krankheiten oder Krankheits-symptome konnte teilweise ebenfalls ein DHEA-Mangel mit Aktivierung des PPC festgestellt werden. Erwähnt seien vor allem außer der schon genannten Adipositas die Arteriosklerose, die zur vorzeitigen Entwicklung von Thrombosen neigt und später zur Hypertonie führt. Typische Begleiterscheinungen sind auch der Diabetes mellitus und die Gicht. Sogar Neigung zu Psychopathien mit cyklothymen Phasen wurden beobachtet (28,48,54,59,72,79,80).

Um eine weitere Erhellung in die bis jetzt gewonnenen Erkenntnisse zu bringen, hat die nachfolgende Arbeit die Aufgabe zu untersuchen, inwieweit bei Patienten mit Hyperlipidämie ein Zusammenhang besteht zwischen den erhöhten Plasmalipidkonzentrationen und dem stark erniedrigten Plasmaspiegel sulfokonjugierten DHEA. Gleichzeitig sollte der Harn jener Patienten, in dem eine deutliche Herabsetzung der Exkretion von DHEA-Sulfat beobachtet wurde (1), einer genaueren Analyse unterworfen werden.

Es scheinen offenkundig Zusammenhänge zwischen dem im Plasma als Sulfokonjugat vorliegenden DHEA und der Glucose-6-PDH-Aktivität in den Erythrozyten bzw. Lipidgehalt des Blutes zu bestehen.

Es wurden deshalb die Glucose-6-PDH in den roten Blutkörperchen und nach i.v. Injection von 7α - ^3H -DHEA-Sulfat die ^3H -markierten C_{19} -Steroide DHEA, ADIOL, ANDRO und ETIO in den Erythrozyten, im Plasma und im 24-Std.-Urin bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie und gesunden Kontrollpersonen bestimmt.

4.=====Material und Methodik.

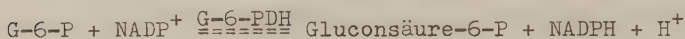
Untersucht wurden 3 Frauen und 11 Männer im Alter zwischen 32 und 67 Jahren mit Hyperlipidämie vom Typ IIa, IIb, IV und V, sowie 13 stoffwechselgesunde Kontrollpersonen im Alter zwischen 28 und 59 Jahren, davon 4 Frauen.

Bei der an Hyperlipidämie erkrankten Gruppe zeigte sich das klinische Erscheinungsbild vorwiegend in Zusammenhang mit Gefäßprozessen wie z.B. Angina pectoris-Anfälle, Herzrhythmusstörungen infolge von Koronarsklerose bis hin zum Herzinfarkt, Claudicatio intermittens, cerebrale Komplikationen verursacht durch Hirndurchblutungsstörungen, Visusverschlechterung durch sklerotische Veränderungen am Augenhintergrund, hoher Blutdruck als Folge allgemeiner Arteriosklerose, außerdem Hepatomegalie bei hochgradiger Verfettung der Leber mit Übergang in beginnende Fettzirrhose oft in Verbindung mit mäßiger bis starker Adipositas. Bei einigen Patienten traten zusätzlich noch Splenomegalie, Hyperuricämie, Xanthelasmen an den Augenlidern und latenter subklinischer bis manifester Diabetes mellitus auf.

Arbeitsweise: Morgens wurde zur jeweils gleichen Uhrzeit vor und ca. 15 min. nach i.v. Injektion von 0,366 µg Ammonium-7α-³H-DHEA-Sulfat mit 4 106 000 cpm ³H gelöst in 2 ml physiologischer Kochsalzlösung 20 ml Nüchternblut aus der Vena cubiti eines jeden Patienten entnommen, wobei Bettruhe vorausgesetzt worden war. Aus dem mit 2 ml Liquemin heparisierten Blut gewann man ca. 8-13 ml Plasma durch 10 minütiges Zentrifugieren bei 1500 g. Die vom Plasma abgetrennten Erythrozyten wurden dreimal mit isotonischer NaCl gewaschen und abzentrifugiert.

Die G-6-PDH-Aktivität wurde in den Erythrozyten der nicht mit ³H-markierten ersten Blutprobe bestimmt.

Diese konnte an Hand der Extinktionszunahme bei 366 nm pro Zeiteinheit durch die Bildungsgeschwindigkeit von NADPH, die ein Maß für die entsprechende Enzymaktivität der G-6-PDH darstellt, bestimmt werden (56).



Die gewaschenen Erythrozyten der 2. Blutprobe, d.h. nach i.v. Gabe von markiertem DHEA-Sulfat, wurden der Hämolyse in Eiswasser von 0°C für mindestens 1 Stunde unterworfen. Nach Enteiweißung und Abfiltration über Schwarzbandfilter(S+S) wurde das Hämolysat auf seinen quantitativen Gehalt an ³H-markierten C₁₉-Steroiden untersucht. Außerdem wurde der Urin vom Zeitpunkt der i.v. Applikation an über 24 Std. gesammelt. Die freien und konjugierten C₁₉-Steroide DHEA, ADIOL, ANDRO und ETIO im Plasma, Hämolysat und Urin wurden nach Standardmethoden analysiert (64, 67, 81, 82, 83).

Die Trennung der verschiedenen Konjugate in Steroid-sulfatide, -sulfate und -glucuronoside erfolgte teils durch Säulenchromatographie an Polyamid, teils durch Dünnschichtchromatographie, wobei die freien Steroide mittels Äther extrahiert wurden. Der anschließenden Hydrolyse der Verbindungen durch Solvolyse in Äthylacetat/Schwefelsäure einerseits und enzymatischer Spaltung durch Inkubation mit β-Glucuronidase/Sulfatase¹⁾ andererseits, folgte die Isolierung freier und freigesetzter C₁₉-Steroide durch mehrfache Dünnschichtchromatographie. Die endgültige Charakterisierung der isolierten C₁₉-Steroide erreichte man durch Überführung aliquoter Teile in entsprechende Derivate. Diese wurden, um eine konstante spezifische ³H-Aktivität zu erhalten, durch nochmalige wiederholte Dünnschichtchromatographie in verschiedenen Systemen gereinigt.

1) Die β-Glucuronidase kann aus Ochsenleber bzw. -milz, Coli-Kulturen oder auch aus dem Magensaft der Wein-

Hierbei wurden die 2,4 Dinitrophenylhydrazone durch Densitometrie im Schoeffel SD 3000 Spektrodensitometer quantitativ erfaßt. Die quantitative Bestimmung von Äthanol/Schwefelsäure Chromogenen wurde durch Photometrie im Beckman DK-2 Spektrophotometer vorgenommen. Zur Erfassung der ^3H -Aktivität wurden die Proben im Packard Tricarb 3310 gemessen.

Das Plasma der 1. Blutprobe und der Harn wurden bis zur Weiterverarbeitung eingefroren.

4. 1. Aufarbeitung von Plasma.

4. 1. 1. Extraktion der freien Steroide.

Zwecks Entfernung freier Steroide wurde das heparinisierte Plasma dreimal mit je 2 Vol. Diäthyläther extrahiert und zur Trockene eingedampft.

4. 1. 2. Gewinnung der gesamten Steroid-Konjugate.

Enteiweißung: Das präextrahierte Plasma wurde mit dem 6-fachen Volumen Äthanol-Aceton (1:1 v/v) 60 min. bei 37°C inkubiert und anschließend über Schwarzbandfilter (S+S) vom ausgefällten Eiweiß abfiltriert. Schließlich wurde, nachdem mit Diisopropyläther-Butanol(2) (4:1 v/v) nachgespült und mit zur flüssigen Phase abfiltriert worden war, wasserfreies Na-sulfat beigelegt zwecks Wasserentzug und nach 60 minütiger Inkubation bei 37°C wieder entfernt.

4. 1. 3. Säulenchromatographische Fraktionierung der 17-Ketosteroide.

Steroid-sulfatide: Nach Eindampfen des Filtrates im Rotationsverdampfer bei 37°C bis auf etwa 5 ml, versetzte man den Rest mit 50 ml Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v) und chromatographierte die filtrierte

bergschnecke, wo sie reichlich vorhanden ist, gewonnen werden (29,35).

Lösung an einer mit demselben Lösungsmittel angesetzten Säule aus MN-Polyamid-SC (ca. 2,5 x 10 cm). So wurde der Reihe nach eluiert mit 50 ml Cyclohexan-Diisopropyläther, 25 ml Diisopropyläther-Methanol (1:1 v/v) und schließlich mit Methanol, welches man aber nur ca. 3 Minuten tropfen ließ. Das restliche Methanol wurde verworfen. Nach Hinzugabe eines Tropfens Eisessig zur Analyse wurde das STD-Filtrat im Rotationsverdampfer eingedampft.

Steroid-sulfate und -glucuronide: Glucuronoside und Sulfate zusammen wurden mit ca. 80 ml Methanol-HCl (99:1 v/v) eluiert unter Prüfung an der Säulenspitze, wann die Reaktion in den sauren pH-Bereich umschlug. Das Eluat wurde, nachdem einige Tropfen Ammoniaklösung zugesetzt worden waren, eingedampft. Um beide Fraktionen zu trennen, trug man den Trockenrückstand in 0,2 ml Chloroform-Methanol (1:1 v/v) gelöst dreimal strichförmig auf eine aktivierte Kieselgelplatte von 0,3 mm Dicke auf mit entsprechenden Standardderivaten als Tests am Rande. Die Auftrennung der verschiedenen Steroid-Konjugate erfolgte in einem Ammoniaksystem (Chloroform-Methanol-NH₄ 15:5:0,2 v/v/v), in welchem die Platte für ca. 2 Stunden belassen werden mußte. Die Glucuronide wurden mit ca. 3 mal 20 ml Methylenchlorid-Methanol (9:1 v/v) eluiert und eingedampft.

4. 1. 4. Solvolyse der Steroid-Konjugate.

Sulfatide und Sulfate: Der Trockenrückstand von STD und S wurden jeweils mit 0,35 ml 1n H₂SO₄ und 20 ml Äthylacetat versetzt und bei 37°C 24 Std. bebrütet. Anschließend entfernte man mit 20 ml NaOH die phenolischen Steroide (Östrogene). Die Äthylacetatlösung wurde darauf 3 mal mit Aqua dest. neutral gewaschen und eingedampft.

Glucuronide: Nachdem der Trockenrückstand mit 0,05 ml β -Glucuronidase/Aryl-Sulfatase für 24 Std. bei 37°C inkubiert worden war, extrahierte man die Glucuronide

mit 3x15 ml Äthylacetat, wobei die neutralen Steroide sowie die Östrogene (= phenolische Steroide) mitgingen. Letztere wurden wieder mit 1n NaOH entfernt. Danach wurde wieder mit Aqua dest. neutral gewaschen und zur Trockene eingedampft.

4. 1. 5. Entfettung.

Zu dem Trockenrückstand gab man 1 Spatelspitze Kieselgel 0,2-0,5 und kühlte denselben nach kräftigem Schütteln in 20 ml Methanol-H₂O (7:3 v/v) für 5 Std. bei -25°C. Darauf zentrifugierte man sofort für 1 Minute und dekantierte vorsichtig vom Niederschlag. Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt.

Rückextraktion: Nachdem das Methanol verdampft war, wurde nach Zusatz von 1-2 Tropfen Eisessig zum wässrigen Rückstand die Lösung 3 mal mit 15 ml Äthylacetat extrahiert, mit Wasser neutral gewaschen und eingedampft.

4. 1. 6. Farbreaktion mit 2,4 - Dinitrophenylhydrazin.

Nachdem der Rückstand mit 0,2 ml 0,2% 2,4-DNPH in Äthylacetat versetzt und eingedampft worden war, inkubierte man mit 2 ml Trichloressigsäure (300g/ml) für 30 min. bei 37°C im Wasserbad und dampfte nochmals zur Trockene ein.

4. 1. 7. Dünnschichtchromatographische Isolierung von DHEA, ADIOL, ETIO und ANDRO.

Auf eine 0,3 mm dicke aktivierte Kieselgelplatte wurde geradlinig der in 3 mal 0,5 - 1 ml Chloroform-Methanol (1:1 v/v) aufgelöste Trockenrückstand aufgetragen mit den entsprechenden Standards seitlich der Platte.

Nachdem sich die verschiedenen Steroide in dem Chloroform-Dioxan-System (94:6 v/v), in dem sie als nächstfolgender Vorgang für ca. 1 1/2 Std. belassen wurden, entsprechend den mitwandernden Tests getrennt hatten,

wurden sie mit 20 ml Methylenchlorid-Methanol (9:1 v/v) und 10 ml Chloroform-Methanol (1:1 v/v) eluiert und eingedampft. Eine weitere Reinigung wurde durch eine zusätzliche zweite Chromatographie erreicht. Die ^3H -markierten Steroide wurden jetzt im Packard Tricarb Spektrometer Mod. 3310 unter Verwendung von 0,4% Omni-fluor in Toluol-Methanol (200:1 v/v) gemessen.

4. 2. Aufarbeitung des Harns (Bestimmung von C_{19} -Steroiden).

4. 2. 1. Extraktion der 17-Ketosteroide.

20 ml Urin wurden mit 8-9 Spatel Ammonium-sulfat bis zur Sättigung geschüttelt und mit ca. 0,5 bis 1 ml HCl konz. angesäuert (geprüft mit Lackmuspapier). Danach wurde 2 mal mit 30-40 ml Äthylacetat extrahiert und die Lösung sodann mit 0,5-0,6 ml Ammoniak konz. (min. 25%) neutralisiert (Lackmus) und eingedampft.

4. 3. Aufarbeitung des Hämolysats (Bestimmung von C_{19} -Steroiden).

Nach Enteiweißung und Sättigung mit Ammonium-sulfat konnten die 17-Ketosteroide wieder unter Ansäuerung mit konzentrierter HCl bis auf pH 1 mit Äthylacetat herausgelöst werden.

Perchlorsäure-Äther-Solvolyse, Extraktion der phenolischen Steroide, Farbreaktion, Isolierung von DHEA, ADIOL, ETIO und ANDRO durch Chromatographie und Messung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen oder Verbindungen im Packard Tricarb 3310 verliefen ebenfalls nach obigem Schema.

4. 3. 1. Perchlorsäure-Äther-Solvolyse (Solvolyse von konjugiertem DHEA, ADIOL, ETIO und ANDRO).

Der Rückstand wurde in 30 ml Perchlorsäure-Äther gelöst

und 24 Std. bei 37°C inkubiert. Als nächster Schritt wurde die Ätherphase mit 10 ml H₂O gewaschen und die phenolischen Steroide mit 20 ml 1n NaOH entfernt. Es folgte die neutrale Waschung mit Wasser und anschließend Eindampfung.

Farbreaktion, Auftrennung der Fraktionen durch Chromatographie und Messung im Packard verliefen wieder nach angeführter Methode.

4. 4. Aufarbeitung von 10 ml Plasma der 1. unmarkierten Blutprobe.

4. 4. 1. Enteiweißung.

Bestimmung der Gesamt-Sulfo-Konjugate: 10 ml Plasma wurden mit dem 6-fachen Volumen Äthanol-Aceton (1:1 v/v), d.h. mit 60 ml 1 Std. bei 37°C im Wasserbad inkubiert und danach vom ausgefällten Eiweiß über Schwarzbandfilter (S+S) abfiltriert und eingedampft.

Perchlorsäure-Äther-Solvolyse, Extraktion der phenolischen Steroide, Entfettung und Farbreaktion wurden nach den beschriebenen Standardmethoden durchgeführt.

4. 4. 2. Isolierung von DHEA und ADIOL mittels zweimaliger Dünnschichtchromatographie.

DHEA: Nachdem DHEA schon in der ersten Dünnschichtchromatographie im Chloroform-Dioxan-System (94:6 v/v) isoliert worden war, wurde es erneut mehrmals in 0,2 ml Chloroform-Methanol (1:1 v/v) gelöst und auf eine aktivierte 0,3 mm dünne Platte aus Kieselgel G strichförmig aufgetragen. Als Lösungsmittel für die zweite chromatographische Reinigung diente Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff (4:1 v/v). Auch in diesem Fließmittel verblieb das DHEA fast unten im Bereich der Auftragstelle in Übereinstimmung mit den entsprechenden sichtbaren Standardderivaten am Rande, während der Rest nach oben wanderte. Nach Elution mit Methylen-

chlorid-Methanol (9:1 v/v) wurde die Probe wieder eingedampft.

ADOL: Um eine bessere Isolierung dieses Steroids zu erreichen, wurde die Acetylierung des ADOL vorgenommen, d.h. es wird eine Acetylgruppe an das ADOL angehängt, die eine saubere Trennung in entsprechendem Lösungsmittelsystem bewirkt. Acetyliert wurde mit Essigsäure: Der bei der ersten Dünnschichtchromatographie isolierte Trockenrückstand des ADOL wurde mit 0,5 ml Essigsäureanhydrid und 0,5 ml Pyridin dest. (auf NaOH aufbewahrt) für 1 Std. bei 60°C im Wasserbad inkubiert. Gleichzeitig wurde ein ADOL-Acetat-Test mit ins Wasserbad gegeben. Danach wurde nach Zugabe von 5 ml H₂O dest. auf jeweils beide Proben zur besseren Sichtbarmachung zweier Phasen, wobei das Pyridin vollständig in H₂O aufgeht, 2 mal mit 10 ml Hexan extrahiert. Dieses wurde dann 1 mal mit 5 ml gesättigter Bicarbonatlösung und 3 mal mit Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand wurde wiederum mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) auf eine aktivierte Kieselgelplatte überführt mit entsprechendem ADOL-Acetat-Test am Rande und im Äthylacetat-Cyclohexan-System (3:7 v/v) entwickelt. Die dem ADOL-Acetat-Test entsprechende Zone wurde mit Chloroform eluiert und eingedampft.

ANDRO und ETIO: Auch das durch die erste Chromatographie entstandene ANDRO-DNPH und ETIO-DNPH wurden nochmals in einem anderen Lösungsmittelsystem aus Trichloräthylen-Methanol (2:8 v/v) chromatographisch dargestellt mit anschließender Elution und Eindampfung.

4. 5. Konzentrationsmessung im Beckman-Spektralphotometer.

Die Trockenrückstände von DHEA, ANDRO und ETIO wurden ebenso wie die zugehörigen Standards in 3 ml Chloroform gelöst und photometrisch gemessen. Beide Proben

wurden in Relation zueinander gesetzt. Man mußte allerdings die maximale Absorption bei 362 nm bzw. bei 372 nm durch nachstehende Formeln korrigieren, da man sonst durch unspezifische Absorption eine ungenaue Konzentration der Steroide erhalten würde.

$$\text{Ext.}_{\text{max(korr.)}} = 2 \times E_{\text{max.}} - (E_1 + E_2)$$

$$\text{DHEA: Ext.}_{362(\text{korr.})} = 2 \times \text{Ext.}_{362} - (\text{Abs.}_{337} + \text{Abs.}_{397})$$

$$\text{ANDRO: Ext.}_{372(\text{korr.})} = 2 \times \text{Ext.}_{372} - (\text{Abs.}_{337} + \text{Abs.}_{407})$$

Zur Berechnung des Gehaltes an ADIOL in der Probe verwendete man die Oertel-Eik-Nes-Reaktion, bei welcher der Steroid-Trockenrückstand mit 1 ml Äthanol und 2 ml H_2SO_4 konz. versetzt im Beckman gemessen wurde. Als Testwert wurde 0,1 ml ADIOL (100 /ml) eingedampft und ebenfalls mit 3 ml eines Schwefelsäure-Äthanol-Reagenzes (2:1 v/v) behandelt. Es entwickelte sich im Verlaufe einiger Minuten eine gelbe Farbe mit einer charakteristischen Absorption, deren Extinktion nach 5 Minuten bei 380, 405 und 430 nm gemessen wurde. Die maximale Absorption bei 405 nm wurde auch hier gemäß nachstehender Formel korrigiert und durch Vergleich mit einem Leerwert (1 ml Äthanol, 2 ml H_2SO_4) die ADIOL-Konzentration festgestellt (35).

$$\text{Ext.}_{405(\text{korr.})} = \text{Ext.}_{405} - \frac{\text{Ext.}_{380} + \text{Ext.}_{430}}{2}$$

5. Statistische Zuverlässigkeitskriterien.

5. 1. Genauigkeitsmaße.

Um die gewonnenen Ergebnisse beurteilen zu können, wurden statistische Verfahren zu Hilfe genommen. Einige wichtige Grundbegriffe sollen deshalb erläutert werden.

5. 1. 1. Stichprobe.

Es handelt sich um ein Pluraletantum: Zufallsauswahl von Patienten mit Hyperlipidämie aus der Grundgesamtheit aller möglichen Patienten mit Hyperlipidämie, mit dem Ziele, hieraus Schlüsse auf die Grundgesamtheit zu ziehen. Jeder Stichprobe kann man gewisse Maßzahlen zu ihrer Kennzeichnung zuordnen. Die beiden praktisch wichtigsten dieser Zahlen sind der

5. 1. 2. sogenannte Mittelwert einer Stichprobe

Er ist definiert als das arithmetische Mittel der Stichprobenwerte und wird mit $\bar{x}$ bezeichnet.

$$\frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \bar{x} \quad \text{oder kurz unter Verwendung des}$$

Summationszeichens $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$

und die

5. 1. 3. sog. Varianz einer Stichprobe.

Sie mißt die Abweichung der Stichprobenwerte $x_1 \dots x_n$ einer Stichprobe vom Mittelwert $\bar{x}$, wobei nicht mit der Summe der Einzelabweichungen, sondern mit den Absolutbeträgen oder den Quadranten der Einzelabweichungen $x_1 - \bar{x}$, $x_2 - \bar{x}, \dots, x_n - \bar{x}$ gerechnet wird, denn die Summe der Einzelabweichungen $(x_1 - \bar{x}) + (x_2 - \bar{x}) + \dots + (x_n - \bar{x})$, die im allgemeinen positive und negative Glieder ($\pm x_i - \bar{x}$) enthält, weil ein Stichprobenwert positiv oder negativ

vom Mittelwert abweichen kann, ist 0, da man auch schreiben kann $x_1 - \bar{x} + x_2 - \bar{x} + \dots + x_n - \bar{x} = 0$ oder $x_1 + x_2 + \dots + x_n - \bar{x}n = 0$ oder letztlich $x_1 + x_2 + \dots + x_n = \bar{x}n$, was ja nach der Gleichung $\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$ stimmt.

Die Konstante, die man erhält, heißt Varianz und wird mit s^2 bezeichnet.

$$s^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{oder kurz unter Ver-}$$

wendung des Summenzeichens $s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$

Die Zahl $n-1$ im Nenner bezeichnet man als die Anzahl der Freiheitsgrade der genannten Quadratsumme, was heißen soll, daß sich die Summe der n Quadrate stets auf eine Summe von $n-1$ Quadraten reduzieren läßt.

5. 1. 4. Streuung.

Die Varianz s^2 bezeichnet man auch als Streuung. Sie ist grob gesagt ein Maß für die Streuung der Werte.

5. 1. 5. Standardabweichung.

Sie wird mit s bezeichnet und ist die positive Quadratwurzel der Varianz.

$$s = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \text{oder kurz } s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

5. 1. 6. Hypothese.

Man versteht darunter die Annahme, daß die betreffende Verteilung einer Zufallsvariablen, für die der Stichprobenmittelwert $\bar{x} = \frac{1}{n}(x_1 + \dots + x_n)$ einen beobachteten Wert darstellt, den Mittelwert $\bar{x}$ hat. Ist die Abweichung von der angenommenen Hypothese des Mittelwertes nicht mehr klein unvermeidlich rein zufällig, sondern groß

und nicht mehr durch Zufall erklärbar, so bezeichnen wir diese als signifikante Abweichung. Die Wahrscheinlichkeit der Abweichung von der Hypothese sollte sehr klein sein; man wählt deshalb üblicherweise als Signifikanzzahl $\alpha = 5\%$ oder 1% .

5. 1. 7. Vergleich der Mittelwerte zweier unabhängiger Stichproben.

Es konnte die Hypothese, ob signifikanter Unterschied besteht, folgendermaßen berechnet werden:

Es ist
$$\frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2} \cdot \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad \text{für größere}$$

n_1 annähernd t-verteilt mit nur (n_1+n_2-2) Freiheitsgraden wegen der Benutzung von 2 Mittelwerten, wobei $\frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2}$ die durch Zusammenfassung beider

Stichproben gewonnene Schätzung für die Varianz s^2 ist. Diese Zusammenfassung der Werte s_1^2 und s_2^2 ist deshalb möglich, weil wir vorausgesetzt haben, daß beide Verteilungen dieselbe Varianz besitzen. Unter Verwendung der Größe s^2 lautet der Ausdruck bzw. die Formel

$$\frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{s^2 \cdot \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad \text{oder} \quad \frac{\bar{x} - \bar{y}}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad . \text{ Der Standardfehler der Differenz der Mittelwerte ist } s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} .$$

5. 1. 8. Vergleich zweier Mittelwerte verbundener Stichproben.

Hier wurde geprüft, ob bei Patienten mit Hyperlipidämie und den Kontrollpersonen Unterschiede hinsichtlich der aus den Stichprobenmeßwerten vor und nach Gabe von DHEA-Sulfat gebildeten Differenzen, für die

auch Mittelwert und eine einheitliche Standardabweichung berechnet wurde, von signifikanter Abweichung bestanden. Es wurde also die Hypothese getestet, ob x_i aus der ersten Stichprobe jeweils aus Verteilungen mit dem gleichen Mittelwert stammen, indem geprüft wurde, ob die Differenzen $d_i = y_i - x_i$ aus einer Normalverteilung mit Mittelwert 0 stammen. Zu diesem Zwecke berechnet man die Größen $\bar{d} = \bar{y} - \bar{x}$

$$\text{oder } \bar{d} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i \quad \text{und hieraus} \quad s_d^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2.$$

Die Testgröße wurde gebildet $t = \frac{\bar{d}}{s_d} \sqrt{n}$. Diese ist

t-verteilt mit $(n-1)$ Freiheitsgraden. Die sogenannte Student'sche t-Verteilung ist die Verteilung der Zufallsvariablen $T = \frac{\bar{X} - \mu}{\sqrt{Y/n}}$, wobei folgendes vorausge-

setzt wird: n ist eine positive ganze Zahl und heißt die Anzahl der Freiheitsgrade der t-Verteilung. X und Y sind unabhängige Zufallsvariable. Mit wachsendem n strebt die Verteilungsfunktion der t-Verteilung gegen die Verteilungsfunktion der t-Verteilung der Normalverteilung mit dem Mittelwert 0 und der Varianz 1.

5. 1. 9. Der Signifikanz-Test.

Mit diesem Test, der in der Statistik zur Beurteilung nötig ist, läßt sich feststellen, ob der wahre Mittelwert m , der durch die Stichprobe gewonnen wurde, mit dem hypothetischen Wert μ in Übereinklang steht bzw. identisch ist oder nicht. Trifft dies nicht zu, dann ist der Unterschied zwischen m und μ "statistisch gesichert" oder in Anlehnung an den anglo-amerikanischen Sprachgebrauch "signifikant". Die Irrtumswahrscheinlichkeit beläuft sich höchstens auf 1% ($p \leq 1\%$). Der Unterschied gilt als "statistisch auffällig", wenn die Signifikanzzahl bzw. die Irrtumswahrscheinlichkeit größer als 1%, aber kleiner oder gleich 5% ist ($1\% < p \leq 5\%$).

6.=====Ergebnisse.

Die einzelne Beteiligung der verschiedenen Hyperlipoproteinämietypen am Krankengut ist aus Tabelle I ersichtlich. Sie zeigt, daß Typ IV und Typ II mit jeweils gleich großer Beteiligung die am häufigsten auftretenden Typen sind. Gerade diese sind stark kohlenhydratinduzierbar und meistens mit Adipositas verbunden, die bei den anderen Typen nicht vorhanden zu sein braucht. Es fällt auch auf, daß von ca. 1 Dutzend Personen besonders das männliche Geschlecht anteilmäßig vorherrscht. Da die Östrogene ebenfalls einen bestimmten Einfluß auf den Lipidspiegel besitzen, mag hierin möglicherweise eine der Ursachen liegen. Aus Erfahrung weiß man, daß im allgemeinen Frauen auch bei stärkerer Obesität seltener an Arteriosklerose erkranken als das männliche Geschlecht, was durch die Obduktionsbefunde an anderer Grundkrankheit verstorbener Frauen ständig vor Augen geführt wird. Allerdings steigen die Gefäßarrosionen nach der Menopause bei gleichen Lebensbedingungen und -verhalten rapide an.

Bemerkenswert ist das höhere Alter der Patienten von ca. 40 bis 50 Jahren, was wiederum vergewärtigt, daß sich die Beschwerden gerade bei Hyperlipidämien erst in fortgeschrittenem Alter bemerkbar machen. Eine bestimmte Relation zwischen Alter und den einzelnen Typen ist aber nicht zu erkennen.

Ein Vergleich der G-6-PDH-Aktivität in Erythrozyten von hyperlipidämischen Patienten und Gesunden, sowie die ^3H -Aktivität in den Erythrozyten mit Verteilung der verschiedenen Fraktionen von DHEA, ADIOL, ANDRO und ETIO nach Geschlecht getrennt, findet sich in Tabelle II bzw. III. Augenfällig ist die gegenüber den Hyperlipidämikern deutlich höhere ^3H -Aktivität von DHEA in den Erythrozyten der Normalpersonen,

sowohl Frauen als auch Männer betreffend. Ähnliche Verhältnisse finden sich beim ANDRO und ETIO.

Die niedrigen Werte von DHEA bei den kranken Personen nähern sich denen des ADIOL der Gesunden; andererseits aber sind keine solch starken Differenzen der ^3H -Aktivität des ADIOL bei beiden Gruppen festzustellen. Dies würde bedeuten, daß bei schon relativ niedrigen Werten von DHEA fast die gleichen Mengen von ADIOL gebildet werden wie bei den Gesunden, was für eine beträchtlich schnellere Bildung von ADIOL aus DHEA spricht. Zur Verdeutlichung trägt der Quotient aus DHEA und ADIOL bei, der für die Gesunden entsprechend den Werten von 7,4 bzw. 7,6 um das 5-7fache höher liegt als bei den Hyperlipidämikern mit den Werten 1,7 bzw. 1,3.

Aufschluß über die ^3H -Aktivität der im Plasma auftretenden Fraktionen freier und konjugierter Steroide gibt Tabelle IV. Zusätzlich wurde die physiologisch wichtigere Sulfatidfraktion noch weiter untersucht in Bezug auf DHEA, ADIOL, ANDRO und ETIO. Besonders aufschlußreich war auch die Bestimmung der spezifischen ^3H -Aktivität dieser isolierten Verbindungen, die eindeutig beim ADIOL der Hyperlipidämiker höher lag. Ebenso waren erhebliche Unterschiede bei den Sulfaten zu verzeichnen.

Entsprechende Werte bezüglich ^3H -markierter C_{19} -Steroide im 24 Stunden-Urin sind in Tabelle V enthalten.

Schließlich wird das ADIOL in fast doppelter Menge bei den Fettstoffwechselkranken ausgeschieden, was wiederum auf eine starke Reduktion des DHEA zu ADIOL hindeutet. Die gegenüber den Gesunden fast doppelt so hohe spezifische ^3H -Aktivität von DHEA im Urin kann nur bedingt sein durch niedrige Ausscheidung von endogenem DHEA, was der Kausalität zufolge bei nicht eingeschränkter Nierenfunktion auf niedrige endogene Plasmaspiegel dieses Steroids schließen läßt.

Außerdem wurden zur Veranschaulichung in Säulendiagrammen alle erhaltenen Mittelwerte mit den Standardabweichungen der einzelnen Stichprobenwerte graphisch in Abbildung 1 bis 4 dargestellt, während Abbildung 5 das Verhältnis der ^3H -Aktivität, spezifischen Aktivität und $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ von DHEA zu den entsprechenden Werten von ADIOL widerspiegelt.

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose(HL-Typ)
Patienten mit Hyperlipidämie				
1	Al.	m	36	II-b
2	Ap.	m	65	IV
3	Ha.	m	38	IV
4	He.	m	50	IV
5	Fe.	m	58	II-b
6	Kr.	m	57	IV
7	Ma.	m	48	IV
8	Re.	m	67	II-a
9	St.	m	52	V
10	We.	m	59	IV
11	Ze.	m	32	V
12	Ka.	f	60	II-b
13	Or.	f	60	II-b
14	Th.	f	47	II-a

Kontroll-
personen

15	Fe.	m	38
16	Ho.	m	59
17	Hol.	m	52
18	Jul.	m	44
19	Jun.	m	20
20	Ka.	m	48
21	Iu.	m	36
22	Ob.	m	58
23	Gü.	f	51
24	Ho.	f	28
25	Ra.	f	55
26	Wo.	f	58

Tabelle I Differenzierung der Hyperlipidämien unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht der Patienten.

Unters.- gruppe	Fallzahl n	Hyperlip.	Fallzahl n	Normal- personen	t	Signifikanz p %
--------------------	---------------	-----------	---------------	---------------------	---	--------------------

G-6-PDH mU/10⁹ Erythrozyten

Männer	11	161.4 ± 21.3	8	116.3 ± 15.8	5.2175	≤ 1
Frauen	3	174.3 ± 25.3	4	123.5 ± 14.4	3.7485	≤ 5

Tabelle II Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität in Erythrozyten von Patienten mit Hyperlipidämie und von gesunden Personen.

Steroid	Fallzahl n	Hyperlip.	Fallzahl n	Normal- personen	t	Signifikanz p %
---------	---------------	-----------	---------------	---------------------	---	--------------------

³H-markierte C₁₉-Steroide, cpm ³H/10⁹ Erythrozyten

Männer	11		8			
DHEA		1.73 ± 0.69		13.51 ± 4.03	-9.6061	≤ 0.1
ADIOL		1.27 ± 0.28		1.76 ± 0.63	-2.3047	> 5.0
ANDRO		0.42 ± 0.11		2.53 ± 0.82	-8.5252	≤ 0.1
ETIO		0.39 ± 0.14		2.46 ± 0.91	-7.5054	≤ 0.1
Frauen	3		4			
DHEA		2.72 ± 1.04		14.70 ± 1.97	-15.6152	≤ 0.1
ADIOL		1.56 ± 0.55		1.99 ± 0.45	- 1.3938	> 5.0
ANDRO		0.61 ± 0.32		2.52 ± 0.66	- 7.7296	≤ 0.1
ETIO		0.56 ± 0.18		1.81 ± 0.88	- 4.7456	≤ 0.1

Tabelle III ³H-Aktivitäten (cpm) der C₁₉-Steroide in Erythrozyten von Patienten mit Hyperlipidämie und von gesunden Personen nach i.v. Gabe von DHEA-Sulfat.

Steroid	Fallzahl n	Hyperlip.	Fallzahl n	Normal- personen	t	Signifikanz p %
---------	---------------	-----------	---------------	---------------------	---	--------------------

Männer 11 8

Konzentration
cpm $^3\text{H}/100 \text{ ml}$

Freie Steroide	219.000 $\pm$ 118.000	178.000 $\pm$ 77.000	0.8595	>5.0
Sulfatide	7.821 $\pm$ 1.780	7.425 $\pm$ 1.629	0.4958	>5.0
DHEA	4.859 $\pm$ 906.000	4.968 $\pm$ 1.116	-0.2367	>5.0
ADIOL	1.095 $\pm$ 619.000	449.000 $\pm$ 128.000	2.8866	$\leq$ 5.0
ANDRO	509.000 $\pm$ 246.000	418.000 $\pm$ 139.000	0.9371	>5.0
ETIO	153.000 $\pm$ 56.000	131.000 $\pm$ 46.000	0.9009	>5.0
Sulfate	1.819 $\pm$ 345.000	942.000 $\pm$ 246.000	6.1296	$\leq$ 0.1
Glucuronoside	72.000 $\pm$ 31.000	75.000 $\pm$ 33.000	0.2255	>5.0

Spezifische Aktivität
cpm $^3\text{H}/\mu\text{g}$

DHEA	88.1 $\pm$ 24.9	56.0 $\pm$ 14.4	3.2554	$\leq$ 1.0
ADIOL	81.6 $\pm$ 21.2	52.0 $\pm$ 13.0	3.4909	$\leq$ 1.0
ANDRO	17.3 $\pm$ 6.5	16.5 $\pm$ 4.4	0.3130	>5.0
ETIO	46.8 $\pm$ 16.7	31.8 $\pm$ 6.5	2.4109	$\leq$ 5.0

Frauen

Konzentration
cpm $^3\text{H}/100 \text{ ml}$

Freie Steroide	263.000 $\pm$ 155.000	190.000 $\pm$ 86.000	0.8124	>5.0
Sulfatide	8.693 $\pm$ 1.166	6.156 $\pm$ 1.360	2.5825	$\leq$ 5.0
DHEA	5.316 $\pm$ 1.005	4.369 $\pm$ 1.162	1.1250	>5.0
ADIOL	1.463 $\pm$ 527.000	429.000 $\pm$ 136.000	3.8719	$\leq$ 5.0
ANDRO	419.000 $\pm$ 79.000	320.000 $\pm$ 87.000	1.5556	>5.0
ETIO	144.000 $\pm$ 85.000	96.000 $\pm$ 22.000	1.1177	>5.0
Sulfate	1.890 $\pm$ 506.000	928.000 $\pm$ 200.000	3.5427	$\leq$ 5.0
Glucuronoside	74.000 $\pm$ 49.000	77.000 $\pm$ 17.000	-0.1038	>5.0

Spezifische Aktivität
cpm $^3\text{H}/\mu\text{g}$

DHEA	100.7 $\pm$ 15.7	76.3 $\pm$ 14.9	2.0914	>5.0
ADIOL	96.0 $\pm$ 16.6	68.7 $\pm$ 17.2	2.1047	>5.0
ANDRO	23.0 $\pm$ 4.8	25.3 $\pm$ 4.1	-0.6932	>5.0
ETIO	43.0 $\pm$ 14.0	43.3 $\pm$ 9.7	-0.00371	>5.0

Tabelle IV ^3H -markierte C_{19} -Steroide im Plasma von Patienten mit Hyperlipidämie und von Normalpersonen nach i.v. Gabe von DHEA-Sulfat.

Steroid	Fallzahl n	Hyperlip.	Fallzahl n	Normal- personen	t	Signifikanz p %
Männer	11		8			
^3H -Aktivität/24h,% Konzentration, cpm 24h		32.20 $\pm$ 10.01		23.63 $\pm$ 5.74	2.1662	≤ 5.0
DHEA		176.900 $\pm$ 72.280		176.730 $\pm$ 61.700	0.0053	> 5.0
ADIOL		171.820 $\pm$ 62.510		91.380 $\pm$ 35.220	3.2665	≤ 1.0
ANDRO		245.800 $\pm$ 55.810		194.380 $\pm$ 55.260	1.9911	> 5.0
ETIO		221.200 $\pm$ 68.990		173.130 $\pm$ 58.050	1.5989	> 5.0
Spezifische Aktivität, cpm $^3\text{H}/\mu\text{g}$						
DHEA		301.8 $\pm$ 51.3		163.5 $\pm$ 53.1	5.7175	≤ 0.1
ADIOL		109.9 $\pm$ 36.1		154.8 $\pm$ 72.0	-1.9725	> 5.0
ANDRO		87.2 $\pm$ 20.0		86.8 $\pm$ 14.8	0.0537	> 5.0
ETIO		89.6 $\pm$ 23.7		89.3 $\pm$ 21.5	0.0330	> 5.0
Frauen						
^3H -Aktivität/24h,% Konzentration, cpm 24h		36.53 $\pm$ 9.97		26.70 $\pm$ 5.82	1.6605	> 5.0
DHEA		184.670 $\pm$ 48.190		237.330 $\pm$ 40.800	1.5705	> 5.0
ADIOL		199.330 $\pm$ 41.260		151.000 $\pm$ 25.980	1.9204	> 5.0
ANDRO		290.500 $\pm$ 91.900		245.000 $\pm$ 36.350	0.9225	> 5.0
ETIO		276.000 $\pm$ 81.680		202.000 $\pm$ 69.510	1.2985	> 5.0
Spezifische Aktivität, cpm $^3\text{H}/\mu\text{g}$						
DHEA		363.7 $\pm$ 51.6		190.2 $\pm$ 28.8	5.7486	≤ 1.0
ADIOL		129.4 $\pm$ 25.6		179.2 $\pm$ 22.0	-2.7709	≤ 5.0
ANDRO		131.7 $\pm$ 25.5		137.7 $\pm$ 19.1	-0.3990	> 5.0
ETIO		136.2 $\pm$ 26.2		110.7 $\pm$ 14.6	1.6678	> 5.0

Tabelle V

^3H -markierte C_{19} -Steroide im Urin von Patienten
mit Hyperlipidämie und von Normalpersonen nach
i.v. Gabe von DHEA-Sulfat.

cpm/10⁹ Erys

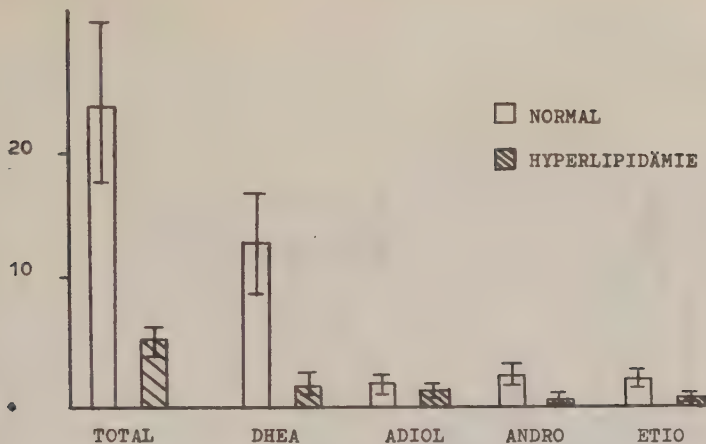


Abbildung 1. Graphische Darstellung der Mittelwerte mit Standardabweichung der C₁₉-Steroide in den Erythrozyten von Patienten mit Hyperlipidämie und von Normalpersonen nach i.v. Gabe von ³H-markiertem DHEA-Sulfat.

cpm/100 ml Plasma

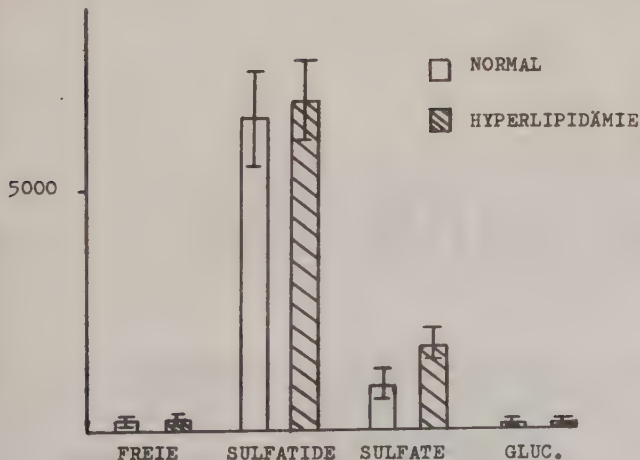
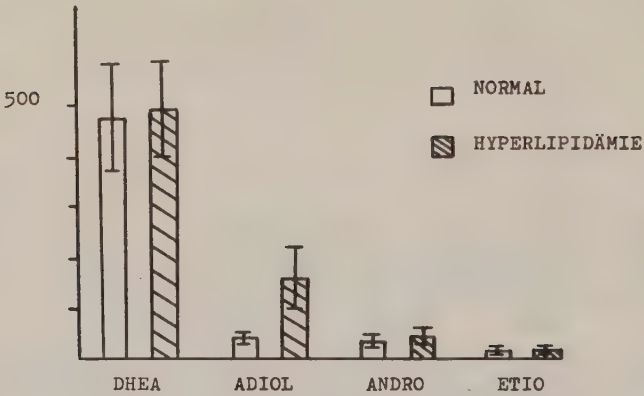


Abbildung 2. Graphische Darstellung der Mittelwerte mit Standardabweichung der C₁₉-Steroidfraktionen im Plasma von Patienten mit Hyperlipidämie und von Normalpersonen nach i.v. Gabe von ³H-markiertem DHEA-Sulfat.

cpm/100 ml Plasma



SA-Plasma
cpm/ μ g

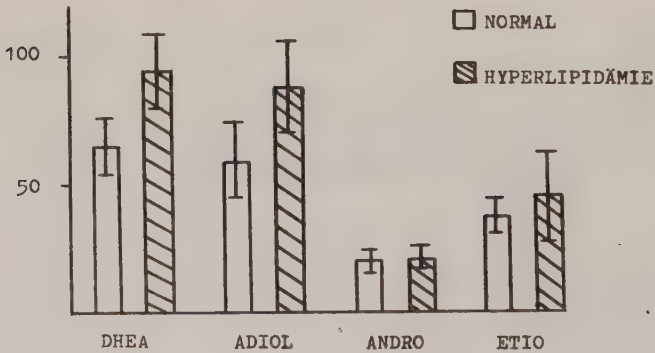


Abbildung 3.

Graphische Darstellungen der Mittelwerte gemessener ^3H -Aktivität bzw. spezifischer Aktivität mit Standardabweichung. Die C_{19} -Steroide wurden nach i.v. Gabe von ^3H - 19 -markiertem DHEA-Sulfat im Plasma von Hyperlipidämiker und von Normalpersonen bestimmt.

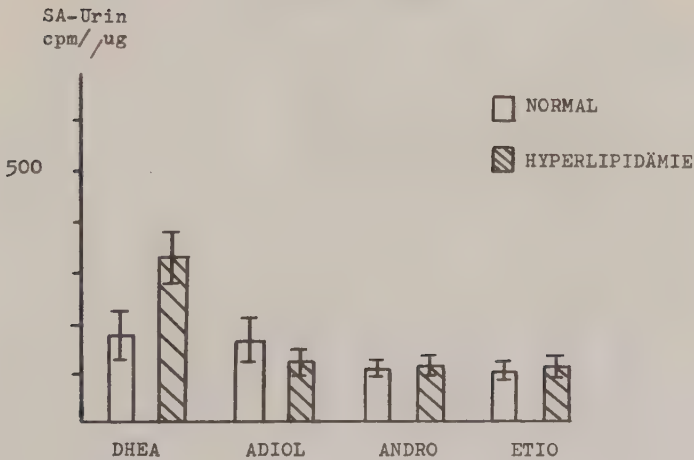
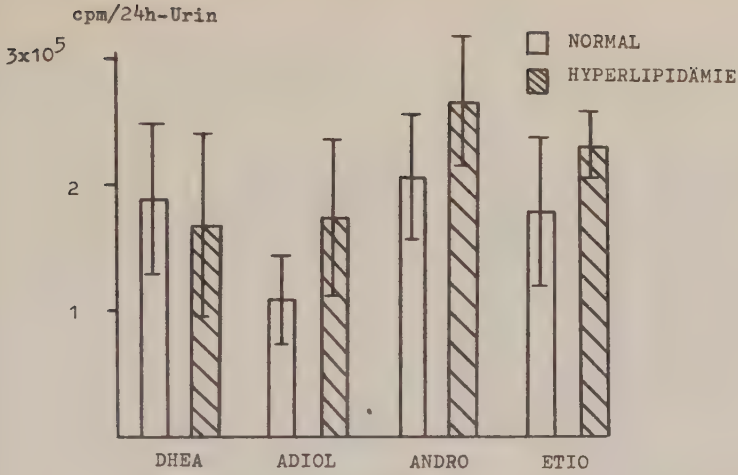


Abbildung 4.

Graphische Darstellungen der Mittelwerte gemessener ^3H -Aktivität bzw. spezifischer Aktivität mit Standardabweichung. Die C_{19} -Steroide wurden nach i.v. Gabe von ^3H -markiertem DHEA-Sulfat bestimmt.

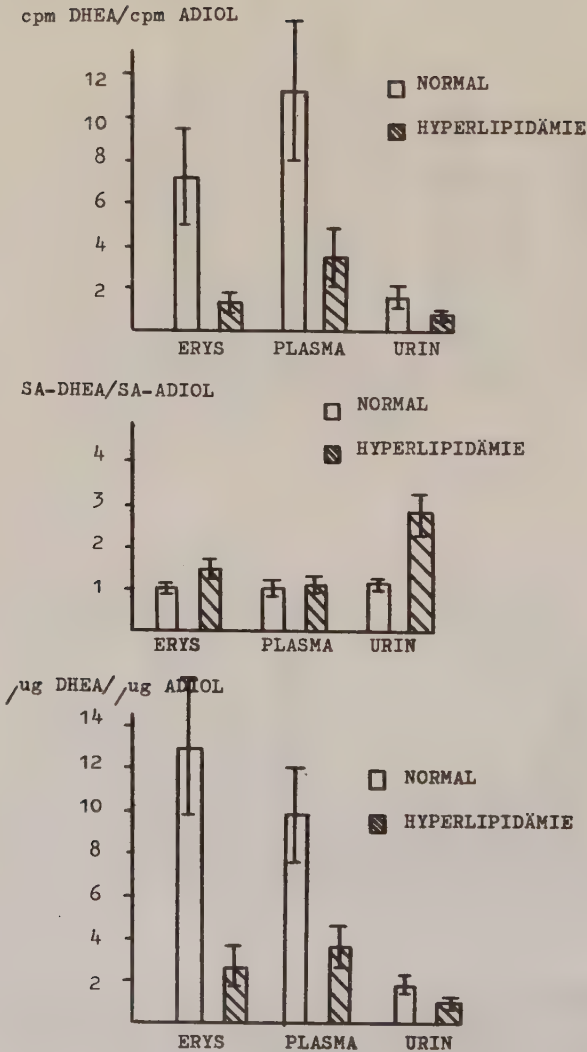


Abbildung 5.

Graphische Darstellungen des Verhältnisses von DHEA zu ADIOL aus den gewonnenen Mittelwerten der ^3H -Aktivität, spezif. Aktivität und $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ unter Berücksichtigung der Standardabweichung nach i.v. Gabe von ^3H -markiertem DHEA-Sulfat.

7.-----Diskussion.

Aus der Gegenüberstellung der in Tabelle II erhaltenen Werte ließ sich nachweisen, daß gegenüber den gesunden Kontrollpersonen die Aktivität der G-6-PDH bei den Stoffwechselgestörten signifikant höher lag. Hierdurch konnten frühere Ergebnisse ähnlicher Art von Oertel, Sonka, Brandau, Lopez u.a. bestätigt werden (9,51,57, 63,79,80). Auch die erheblich verminderte Konzentration der ^3H -markierten C_{19} -Steroide in den isolierten Erythrozyten der Patienten mit Hyperlipidämie korreliert mit diesen Befunden.

Um einen genaueren Aufschluß über die Verteilung der einzelnen Konzentrationen der in die Erythrozyten penetrierten C_{19} -Steroide zu erhalten, wurde die ^3H -Aktivität des markierten DHEA, ADIOL, ANDRO und ETIO im Hämolysat der gewaschenen Erythrozyten bestimmt. Aus bis jetzt noch unklarer Ursache, welche möglicherweise in einer veränderten Membranstruktur zu suchen ist, scheint hier eine verminderte Membranpermeabilität für diese Steroide auch in sulfokonjugierter Form offensichtlich vorzuliegen. Bei der Analyse der Radioaktivität wunderte es deshalb nicht, daß von den 17-Oxosteroiden gerade das DHEA einen signifikanten Unterschied in der Konzentration aufwies. Dieses als spezifischer Inhibitor der G-6-PDH war in den roten Blutkörperchen der Hyperlipidämiker beträchtlich erniedrigt, womit sich schließlich die Aktivitätssteigerung dieses ersten Schlüsselenzyms des PPC erklären ließ. Die verminderte ^3H -Aktivität in den Erythrozyten seinerseits aber war wieder Folge niedriger Plasmaspiegel von DHEA. Gleichzeitig verzeichnete man in Verbindung hiermit eine prozentuale Zunahme des ADIOL um das Dreifache der in den Erythrozyten befindlichen ^3H -Aktivität bei Normalpersonen, d.h. von 7,5 und 8,0% auf 25,2 und 21,4%, was eindeutig abhängig war von einer starken Reduktion des DHEA,

mit der auch seine niedrigen Plasmaspiegel in Einklang standen. Der Schluß lag nahe, den Vorgang auf die intrazelluläre 17 β -Hydroxysteroid-Oxydoreduktase zurückzuführen, deren Aktivität NADP(H)-abhängig ist (6,13). Da die Steigerung des PPC durch eine unzulänglich gehemmte G-6-PDH mit einer verstärkten Bildung von NADPH verbunden ist, konnte sich auf diesem Wege eine außerordentliche 17 β -OH-SD-Aktivität entfalten und somit sich das normale Gleichgewicht DHEA - ADIOL zugunsten von ADIOL verschieben durch Reduktion der 17-Oxosteroide zu den 17 β -Hydroxysteroiden. So wurde infolge des verminderten DHEA in den Erythrozyten ein Cyclus eingeleitet, in dem die folgenden Schritte G-6-PDH-Aktivität - Steigerung derselben durch Wegfall der DHEA-Bremse - vermehrte NADPH-Bildung - verstärkte 17 β -OH-SD-Aktivität mit extensiver Reduktion von DHEA zu ADIOL, das aber keine Hemmung mehr besitzt, immer wieder von neuem durchlaufen werden.

Eine zweite Möglichkeit der vermehrten ADIOL-Bildung mag darin bestehen, daß die 17 β -OH-SD in verstärktem Maße gebildet wird. Dagegen aber sprechen eher Untersuchungen, bei denen mit Isolierung dieses Enzyms ebenfalls große Mengen von G-6-PDH gefunden wurden, die den ersteren Weg über NADPH wahrscheinlicher machen (13).

Die Resultate über die Untersuchungen der Plasma-Steroide, die man aufteilte in die Fraktionen der FREIEN STEROIDE, STERIOD-SULFATIDE, STERIOD-SULFATE und STERIOD-GLUCURONOSIDE in Tabelle III, konnten diese Feststellungen nur noch weiter bestätigen. Auffällig war auch hier eine gegenüber den kontrollen statistisch erfaßbare Konzentrationserhöhung der Steroid-Sulfate im peripheren Plasma der Hyperlipidämiker, in dem eine doppelt so hohe ³H-Aktivität für eine verzögerte Bildung von lipophilen Steroid-Sulfatiden

aus injiziertem 7α - ^3H -DHEA-Sulfat sprach (66,67). Auf der einen Seite war also eine geringere Penetrationsrate von dem die G-6-PDH inhibierenden DHEA-Sulfatid wegen seiner verlangsamten Bildung und darüber hinaus verminderten Membrandurchlässigkeit zu erwarten, andererseits übte das vermehrte Angebot von hydrophilen Steroid-Sulfaten keine Hemmwirkung mehr aus, was sich in der erhöht bleibenden G-6-PDH zeigte. Selbst die Annahme, es könne sich in n e r h a l b der Zelle aus reichlich vorhandenem Sulfat vermehrt DHEA-Sulfatid bilden, geht fehl, da ersteres wegen seiner hydrophilen Eigenschaften die Zellmembranen nicht zu passieren vermag. Glucuronide und freie Steroide wiesen keine signifikanten Unterschiede auf.

Wesentliche Differenzen traten aber beim ADIOL der Sulfatid-Fraktion auf, die sich am besten durch Prozentzahlen demonstrieren lassen. Es stieg nämlich das Androstendiol-Sulfatid bis auf 16,6 und 20,0% der isolierten ^3H -markierten C_{19} -Steroide an, während die Sulfatid-Fraktion im Plasma der Normalpersonen nur 7,5 und 8,1% ADIOL lieferte. Die um das zwei- bis dreifach höhere Konzentration des ADIOL bei den Kranken verdeutlicht wieder in anschaulicher Weise die starke Reduktion der 17 -Oxo-Steroide zu den 17 -Hydroxy-Steroiden.

Sehr eindrucksvoll waren die Ergebnisse bei Beurteilung der sogenannten spezifischen ^3H -Aktivität, d.h. Radioaktivität pro quantitativer Einheit Substanz. Die Resultate entsprachen durchaus den bereits erzielten Erkenntnissen über den Metabolismus der C_{19} -Steroide bei Fettstoffwechselgestörten. Die hohen Werte der spezifischen Aktivität bei DHEA und ADIOL waren durch ein reziprokes Verhältnis der Konzentrationen von endogenem DHEA und ADIOL auf der einen Seite und markiertem DHEA und ADIOL andererseits mit hierdurch bedingten geringeren Verdünnungseffekt erklärbar, wobei man im Hinblick auf die hohen Werte

für ADIOL eine vermehrte Bildung dieses Steroids aus dem vermindert vorliegenden endogenen DHEA annehmen mußte.

Eine deutliche Korrelation hierzu findet sich als Folge der bevorzugten Bildung von ADIOL als auch anderer stärker gebildeter und ausgeschiedener Dihydroxysteroidoide wie 5-Androsten- β B-17a-diol (37) oder 5a- und 5 β -Androstendiol in einer bei den hyperlipidämischen Patienten weitaus höheren ^3H -Aktivität der im Urin ausgeschiedenen Steroide als bei den Normalpersonen. Wie aus Tabelle IV ersichtlich ist, erreichte sie 32,2 und 36,5% der injizierten ^3H -Aktivität. Die doch erhebliche Differenz läßt sich an den entsprechenden Prozentzahlen der Kontrollen erkennen. Sie lagen mit durchschnittlich 23,6 und 26,7% der injizierten ^3H -Aktivität um ein Drittel niedriger als bei den Kranken. Die Tatsache, daß die renale Clearance von ADIOL, das, wie schon seit 1970 durch Jänne bekannt ist, hauptsächlich als Mono- und Disulfat ausgeschieden wird, diejenige von 17-Oxo-Steroiden überschreitet (2,37), zeigt sich in annähernd gleiche ^3H -Aktivität des gesamten ADIOL und des isolierten DHEA im Urin der Hyperlipidämiker.

Die spezifische ^3H -Aktivität von ADIOL der Kranken näherte sich stark derjenigen von DHEA der Gesunden, während sie aber innerhalb des eigenen kranken Personenkreises nur ein Drittel der ^3H -Aktivität von DHEA erreichte.

Da die spezifische Aktivität von DHEA und ADIOL bei den Kontrollen beinahe gleich waren, könnte man eine Verschiebung des normalen Gleichgewichtes DHEA:ADIOL bei den Kranken annehmen. Die starke Differenz der Werte für die spezifische Aktivität dieser beiden Steroide zeigt deutlich die Verschiebung zugunsten von ADIOL, welches in größeren Mengen endogen gebildet wird und somit eine stärkere Substanzverdünnung

bewirkt mit den dadurch niedriger liegenden Werten für die spezifische Aktivität. Geschieht dieses doch durch verstärkte Reduktion und Verminderung von DHEA, das bei den Kranken in niedriger Konzentration im Urin nachzuweisen ist und dementsprechend mit einer signifikant höheren spezifischen ^3H -Aktivität verbunden ist. Adlercreutz, dessen Untersuchungen sich ebenfalls auf diesen Bereich erstreckten, verzeichnete hiermit übereinstimmende Ergebnisse. Auch er konnte keine wesentlichen Veränderungen bezüglich der Urinausscheidung von ANDRO und ETIO feststellen (1).

Eine eingehendere Untersuchungsstudie wurde auch bei Psoriatikern durchgeführt, wo ähnliche Beziehungen bestanden. Es wurden ebenfalls hohe intrazelluläre G-6-PDH-Aktivitäten bei verminderter Erythrozytenmembranpermeabilität, verbunden mit niedrigen Spiegeln von DHEA, sowie eine herabgesetzte Glucosetoleranz, gefunden (11,29,31,68). Letztere war bei den Hyperlipidämien ebenso nachweisbar mit Ausnahme des Typs II, bei der eine eingeschränkte Glucosetoleranz und stärker erhöhte Triglyceridspiegel nicht nachgewiesen werden konnten.

Eine Relation zwischen den einzelnen Steroidparametern und den verschiedenen Hyperlipidämietypen war bei den männlichen wie weiblichen Patienten nicht nachzuweisen. Auf eine eigene statistische Auswertung der Ergebnisse der weiblichen Hyperlipidämiker wurde verzichtet, da nur drei Frauen untersucht wurden.

8. Zusammenfassung.

Die durchgeführten Untersuchungen mit den gewonnenen Ergebnissen ließen erkennen, daß bei den Patienten mit Hyperlipidämie vom Typ IIa, IIb, IV und V ein von den Gesunden abweichender größerer Metabolismus der C_{19} -Steroide stattfindet. Die beträchtlich höhere Aktivität der G-6-PDH in den Erythrozyten der Hyperlipidämiker, die nachweislich gefunden wurde, mag Zeuge der häufig auftretenden Obesität bzw. der erhöhten Fettwerte im Blut sein.

Der Pentosephosphatcyclus läuft durch Wegfall dieser Bremse auf Hochtouren und ist so zu anabolen Reaktionen über die Freisetzung von NADPH in höherem Maße befähigt. Die hohen G-6-PDH-Aktivitäten sind letztlich teilweise wiederum abhängig einesteils von niedrigen Spiegeln an DHEA im Plasma, deren Ursache bis jetzt noch nicht geklärt ist, anderenteils durch eine verminderte Permeabilität der Erythrozytenmembran für DHEA oder seinen Sulfatiden. Überdies begünstigt das im PPC vermehrt gebildete NADPH außer der verstärkten Fettsäuresynthese die Reduktion des auf das Enzym hemmend wirkende DHEA zum ADIOL, das keine Hemmwirkung mehr besitzt, so daß auch hier eine Art circulus vitiosus vorhanden ist, der nur durch erhöhte Spiegel von DHEA durchbrochen und dadurch der Metabolismus der C_{19} -Steroide wieder der Norm angeglichen werden könnte.

Daß es sich um ein kompliziertes Uhrwerk des Steroid-Metabolismus mit weitgreifender Verzahnung und Auswirkung auf andere Stoffwechselgeschehen handelt, mögen die vielen oft mit den Hyperlipidämien in Zusammenhang stehenden Erkrankungen oder sie begleitende Krankheitssymptome andeuten (4,6,10,23,28,40,47,48,54,59,75,76,85).

Der Versuch einer Therapie mit DHEA-Sulfat bei Fettstoffwechselgestörten sollte weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

9.=====Literaturverzeichnis=====

1. ADLERCREUTZ, H., KERSTELL, J., SVANBORG, A. and VIKHO, R.:
Studies in plasma neutral steroid sul-
fates, urinary 11-desoxy-17-ketosteroids
and estrogens, and plasma lipids in
patients with hypercholesterolemia or
hyperlipämia. Ann. Med. exp. Fenn. 46,
165-171 (1968)
2. BAUTIEU, E.E., CORPECHOT, C., DRAY, F., EMILIOZZI, R.,
LEBEAU, M.C., MAUVAIS-JARVIS, P. and
ROBEL, P.: An adrenal secreted androgen:
dehydroisoandrosterone sulfate; its meta-
bolism and a tentative generalisation
on the metabolism of steroid conjugates
in man. Recent Progr. Hormones Res. 21,
411-450 (1965)
3. BERG, G. und FEKL, W.: Medizin und Ernährung. Sonder-
druck 12, 8: 185 (1971)
4. BERG, G.: Hyperlipidämien. Klassifizierung, Unter-
suchungsmethodik, Therapie. Thieme Ver-
lag, Stuttgart 1971
5. BERG, G.: Steroidhormone und Fettstoffwechsel.
Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darm-
stadt 1972
6. BERG, G., BERGNER, D., GRABNER, W., MATZKIES, F.: Praktische
Hinweise zur Diagnostik von Hyperlipid-
ämien. Fortschr. Med. 88, 938-940 (1970)
7. BLOCH, R. und HABERICH, J.F.: Mittelkettige Fettsäuren.
Resorption, Stoffwechsel und klinische
Bedeutung. Dtsch. med. Wschr. 98, 20-25
(1973)
8. BÖHLE, E., DITSCHUNEIT, H., MELANI, F., BEYER, J., SCHÖFFLING,
K., PFEIFFER, E.F.: Über die Regulation
der unveresterten Fettsäuren. Dtsch. med.
Wschr. 91, 23: 1083-1090 (1966)

9. BRANDAU, H. und LUH, W.: Der Einfluß von Steroidhormonen auf die Glucoseoxydation. Geburtsh. Frauenheilk. 28: 1074-1075 (1968)
10. BRAUN-FALCO, O.: Weissen Xanthelasma an Augenlid auf eine familiäre Hypercholesterinämie hin? Dtsch. med. Wschr. 91. Jg., Nr. 6, 282 (1966)
11. BREGENZER, C. M.: C₁₈ und C₁₉-Steroide in Plasma, Harn und Stuhl bei Psoriasis vulgaris vor und nach Gabe von DHEA-sulfat. Inauguraldissertation, Joh. Gutenberg-Universität Mainz 1972
12. BRINKMANN, A. O., MULDER, E. and MOLEN, H. J. VAN DER: Localization and characterization of steroid binding sites of human red blood cells. Excerpta Med. Intern. Congr. Ser. 210, 144 (1970)
13. BRINKMANN, A. O., MULDER, E. and MOLEN, H. J. VAN DER: Model studies with erythrocytes on initial steps of cellular uptake and binding of steroids. J. Steroid Biochem. 3: 601-615 (1972)
14. BRINKMANN, A. O. and MOLEN, H. J. VAN DER: Localization and characterization of steroid binding sites of human red blood cells. Biochimica et biophysica acta 274: 370-381 (1972)
15. BÜCHER, Th., LUH, W. und PETTE, D.: In Hoppe Seyler/Thierfelder. Handbuch der phys. chem. Analyse (Herausgeber: K. Lang und E. Lehnhardt) 10. Aufl. Band 6 Teil A, 292-339. Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, New York (1964)
16. BURGER, H., FLORIAN, H. J. und HOLZMANN, G.: Über die Beeinflussung der Serum-Lipide gesunder Frauen durch Ovulationshemmer. Z. Geburts. Gynäk. 170, 1: 1-14 (1969)

17. BUSCH, D. und BOIE, K.: Klin. Wschr. 47. Jg., Nr. 21, 1172 (1969)
18. CRAMER, K., AURELL, M. and RYBO, G.: Serum Lipids and Lipoproteins during long-Term Administration of an oral Contraceptive. Lancet 7432: 291-293 (1966)
19. DENNEBAUM, R., HOFFMANN, G., OERTEL, G. W., MORSCHES, B. and HOLZMANN, H.: Steroids and Skin XI. C₁₉-Steroids in Skin Eluates from Psoriatics. Horm. Metab. Res. 4, 383-385 (1972)
20. DESHPANDE, N. and JENSEN, V.: Some aspects of the control of dehydroepiandrosterone (DHA) synthesis by human adrenal gland. Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser. 210, 116 (1970)
21. DOCUMENTA GEIGY: Biochemie des Stoffwechsels. Wissenschaftl. Tabellen, 6. Aufl., 350-360, 367-381, 400 Basel: Pharma (1968)
22. FAREIN, I., TOTH, I. and JULESZ, M.: Conjugation in vitro of dehydroepiandrosterone sulphate by normal and hirsute female skin slices. Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser. 210, 116 (1970)
23. FLURY, W.: Therapie der Hyperlipidämien. Herz/Kreisl., 4. Jg., Nr. 8, 284-287 (1972)
24. GERSHBERG, H., HULSE, H. and JAVIER, Z.: Hypertriglyceridemia During Treatment with Estrogen and Oral Contraceptives. Obstet. Gynec. 31, 2: 186-189 (1968)
25. GRETEN, H.: Diagnose und Differenzierung von Hyperlipidämien. Klin. Wschr. 47, 17: 893-896 (1969)
26. GRETEN, H., SEIDEL, D., WALTER, B. und KOLBE, J.: Die Lipoproteinelektrophorese zur Diagnose von Hyperlipoproteinämien. Dtsch. med. Wschr. 95, 34: 1720-1723 (1970)

27. HARTMANN, G. und WYSS, F.: Die Hyperlipidämien in Klinik und Praxis. Verlag Hans Huber, Bern, Stuttgart, Wien 1970
28. MEYDEN, S.: Risikofaktoren für das Herz. Ergebnisse und Konsequenzen der post-Framingham-Studien. Studienreihe Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim 1974
29. HOFFMANN, G.: Untersuchungen zum Verhalten des Dehydroepiandrosteron im Plasma und der Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Aktivität in Erythrocyten bei Psoriasis vulgaris. Inauguraldissertation, Joh. Gutenberg-Universität Mainz 1971
30. HOFFMANN, G., MORSCHES, B., DÖHLER, U., HOLZMANN, H. und OERTEL, G.W.: Steroide und Haut. VIII. In vitro Versuche mit 7- α -³H-Dehydroepiandrosteron und seinen Sulfo-konjugaten an intakten Erythrocyten bei Psoriasis vulgaris. Arch. dermat. Forsch. 245: 95-109 (1972)
31. HOFFMANN, G., WENZEL, F., OERTEL, G.W., MORSCHES, B. und HOLZMANN, H.: Der Stoffwechsel von Dehydroepiandrosteron-Lauryl-Sulfat bei Psoriasis. Steroids and Lipids Res. 3: 229-235 (1972)
32. HAUSER, J. und POMETTA, D.: Hyperlipoproteinämien. Diagnostik 1: 43 (1973)
33. HENKEL, E.: Lipidstoffwechselstörungen: biochemische Untersuchungsmethoden. Diagnostik 7: 605-609 (1974)
34. HOLZMANN, H., MORSCHES, B., GEBHARDT, R., HOFFMANN, G., MENZEL, P. und OERTEL, G.W.: Untersuchungen zum DHEA-Gehalt im Plasma von Psoriatikern. Z. Haut-Geschl.Kr. 45, 16: 579-590 (1970)
35. FÜBNER, H.J. und STAIB, H.: Biochemie der Nebennierenrinden-Hormone. S. 9, 39, 54, 74, 156, 172. Thieme Verlag, Stuttgart 1965

36. IRSIGLER, K. und KLEMENS, U.: Praktische und klinische Bedeutung des Fettstoffwechsels. Biochemica Boehringer Mannheim GmbH Nachdruck der 1. Auflage, Mannheim 1971
37. JÄNNE, O.: Neutral steroid mono- and disulfates in adult human urine; thesis Helsinki (Kirjapeino Polytypos, Turku 1970)
38. JONES, T., CAMERON, E.H.D., GRIFFITHS, K. and FORREST, A.: In vitro steroid biosynthesis by normal human adrenal tissue. Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser. 210, 106 (1970)
39. KAFFARNIK, H.: Lipidstoffwechsel: epidemiologische und präventiv-medizinische Bedeutung biochemischer Untersuchungen. Diagnostik 7: 591-595 (1974)
40. KAHLKE, W.: Typisierung von Lipidstoffwechselstörungen. Diagnostik 7: 595-600 (1974)
41. KAHLKE, W.: Differenzierung der essentiellen familiären Hyperlipoproteinämien (Hyperlipidämien). Dtsch. med. Wschr. 91, 1: 26-29 (1966)
42. KAFFARNIK, H. und KARSCHNIA, R.: Orale Kontrazeption und Lipidstoffwechsel. Arch. Gynäkol. 214, 1/4: 263-264 (1973)
43. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1967
44. KLENK, E., DEBUCH, H., ZÖLLNER, N., WERLE, E., Staudinger, H.J. und KLINGMÜLLER, V.: Vorschlag zur Vereinheitlichung der Nomenklatur der Neutralfette und der Lipide. Hoppe-Seyler's Z. f. phys. Chem. 327: 1-2 (1961)
45. KNAPPSTEIN, P., WORTMANN, W., MAPPES, G., CENTURIO, A. and OERTEL, G.W.: In vivo perfusion studies of the human liver with various steroids. Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser. 210, 139 (1970)

46. KREYSZIG, E.: Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen 1968
47. KNÜCHEL, F.: Hyperlipidämien: Vorkommen, Bedeutung, Therapie. Med. Welt 32, 1848-1860 (1967)
48. KREMER, G. J.: Krankheiten durch Störungen des Fettstoffwechsels. Therapiewoche 21, 3: 175 (1971)
49. KREMER, G. J.: Zur Klassifikation und Therapie der Hyperlipidämien. Therapiewoche 10, 20: 420 (1970)
50. KREMER, G. J.: Zur Pathophysiologie, Diagnostik und klinischen Bedeutung von Fettstoffwechselstörungen. Ärzteblatt Rheinland-Pfalz 25, 6: 550-555 (1972)
51. KUEMMERLE, H. P. und HITZENBERGER, G.: Fettstoffwechsel-Symposium internationales. Frankfurt/Main Gravenbruch. Veranstalet am 17./18.6. 1969 München, Berlin, Wien 1969
52. LAURENCE, D. R.: Clinical Pharmacology Fourth Edition Churchill Livingstone, Edinburgh London and New York p.: 23.15-23.17 (1973)
53. LAURITZEN, Ch.: Östrogene, Gestagene und Fettstoffwechsel. Z. Ernährungsw. Suppl. 12, 22 (1972)
54. LITTMANN, K. P. und GERDES, H.: Extreme symptomatische Hyperlipidämien bei Diabetes. Dtsch. med. Wschr. 95, 1918-1922 (1970)
55. LÖFFLER, G. und WEINGES, K. F.: Die endokrine Beeinflussung des Stoffwechsels im Fettgewebe. Dtsch. med. Wschr. 91, 773-778 (1966)
56. IÖHR, G. W. und WALLER, H. D.: Glucose-6-phosphat-dehydrogenase; in Bergmeyer, H. U. Methoden der enzymatischen Analyse, Verlag Chemie, p.: 744-751, 599-606 Weinheim 1964

57. LOPEZ, S. and KREHL, W.: A possible interrelation between glucose-6-phosphat-dehydrogenase in obesity. *Lancet* ii: 485-487 (1967)
58. MENZEL, P., MATZANDER, U., PENZES, L. and OERTEL, G.W.: In vivo perfusion of human lung tissue with 7 α -³H-dehydroepiandrosterone-³⁵S-sulfate. *Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser.* 210, 139 (1970)
59. MERTZ, P.D. und WOLLENWEBER, J.: Zur Klassifizierung der Hyperlipoproteinämie bei primärer Gicht. *Dtsch. med. Wschr.* 23, 924-925 (1972)
60. NIGEON, C.J. and GREEN, O.C.: Study of adrenocortical function in obesity. *Metabolism* 12, 718 (1963)
61. MULDER, E., BRINKMAN, A.O. and MOLEN, H.J. VAN DER: Isolation and characterization of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase from human erythrocytes. *Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser.* 210, 135-136 (1970)
62. NOSEDA, G. und SCHLUMPF, E.: Diagnose der Hyperlipoproteinämien. *Herz/Kreisl.* 4, 8: 279-283 (1972)
63. OERTEL, G.W.: Einfluß von Steroiden auf die Glucose-6-phosphat-dehydrogenase und den Lipidstoffwechsel. *Z. Ernährungsw. Suppl.* 12, 46-51 (1972)
64. OERTEL, G.W.: Chem. Bestimmung von Steroiden im menschl. Plasma. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1972
65. OERTEL, G.W.: Dehydroepiandrosteron in biochemischer und klinischer Sicht. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* 21, 543-545 (1971)

66. OERTEL, G.W. und KNAPPSTEIN, P.: Über Steroid-Konjugate im Plasma. XVIII. In vivo Biogenese und Metabolismus von ^3H - und ^{35}S -markierten C_{19} -Steroid-Sulfatiden. Z. physiol. Chem. 344, 159-162 (1966)
67. OERTEL, G.W., KNAPPSTEIN, P. und TREIBER, L.: Über Steroid-Konjugate im Plasma. XIX. Direkter und indirekter Metabolismus von i.v. verabreichtem ^3H - und ^{35}S -markiertem Androstenolon-Sulfat. Z. physiol. Chem. 345, 221-235 (1966)
68. OERTEL, G.W., HOFFMANN, G., MORSCHE, B. und HOLZMANN, H.: Steroide und Haut. IX. Zum Stoffwechsel von 7α - ^3H -DHEA-Sulfat bei Psoriasis vulgaris. Steroidologia 2, 175-184 (1971)
69. OERTEL, G.W., MENZEL, P., HOFFMANN, G., HOLZMANN, H., MORSCHE, B. und GEBHARDT, R.: Dehydroepiandrosteron im Plasma und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase-Aktivität in Erythrocyten von Psoriatikern vor und nach Gabe von Dehydroepiandrosteron-sulfat. Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 9, 28-30 (1971)
70. OERTEL, G.W. und TREIBER, L.: Hoppe-Seyler's Z. für physiol. Chem. 344, 163-165 (1966)
71. OERTEL, G.W. und MENZEL, P.: Inhibition of human glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity by dehydroepiandrosterone sulfatide. Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser. 210, 163 Vol 23 ff (1970)
72. PETZOLD, F.A.: Zur hormonalen Regulierung der Lipid- und Lipoproteidkonzentration des Blutes. Ärztl. Wschr. 13, 482-488 (1958)
73. PETZOLD, A., RIES, W. und SCHMIDT, W.: Endokrinologie 47, 5/6: 271-277 (1965)

74. PFANZAGH, J.: Allgem. Methodenlehre der Statistik, Band I und II, Sammlung Götschen, Walter de Gruyter u. Co., Berlin 1968
75. SCHETTLER, G.: Fettstoffwechselstörungen, ihre Erkennung und Behandlung. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971
76. SCHETTLER, G.: Inwieweit wird die Blutsenkung durch eine Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie oder ganz allgemein durch Hyperlipämien beeinflusst? Dtsch. med. Wschr. 91, 1133 (1966)
77. SCHNEIDER, G., FENZEL, P., WENDELBERGER, F. and OERTEL, G.W.: In vivo Perfusion of Human Thyroid Tissue with 4-¹⁴C-Dehydroepiandrosterone and 7 α -³H-Dehydroepiandrosterone Sulfate. Metabolism of Steroid Conjugates. X. Separatum Experimentia 27, 210 (1971)
78. SCHWANDT, P.: Über die hypophysäre Regulation des Fettstoffwechsels. Intern. J. of clinical pharmacology, therapy and toxicologie, Beiheft Fettstoffwechsel p: 57 (1969)
79. SONKA, J. und GREGOROVA, I.: Dehydroepiandrosteron - ein neuer Zutritt zur Pathogenese der Obesität. Endokrinologie 43, 206-214 (1962)
80. SONKA, J., GREGOROVA, I., JIRANEK, M., KÖLBEL, F. und MATYS, Z.: Defekt des Dehydroepiandrosteron - Ein neues Syndrom? Endokrinologie 47, 152-161 (1965)
81. TREJBER, L. and OERTEL, G.W.: Estimation of ketosteroids with 2,4-dinitrophenyl-hydrazine. III. Determination of dehydroepiandrosterone, androsterone and etiocholanolone in urine. Clin. chim. Acta 17, 81-86 (1967)

82. TREIBER, I., RINDT, W. und CERTEL, G.W.: Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. II. Anwendung der Methode bei Plasmaanalysen. Z. klin. Chem. 5, 102-104 (1967)
83. TREIBER, I. und CERTEL, G.W.: Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 5, 2: 83-86 (1967)
84. VOIGT, K.D. und LINDENMEYER, D.: Stoffwechselwirkung oraler Contraceptiva. Der Gynäkologe 5, 3: 141-149 (1972)
85. WEBER, K. und BRAUN-FALCO, O.: Hyperlipoproteinämien. Diagnostik 5, 361-366 (1972)
86. WEINHEIMER, B., CERTEL, G.W., KAISER, E., BLAISE, H. and BETTE, L.: Deficiency of β -hydroxysteroid dehydrogenase in adult male adrenal cortex. Excerpta Medica. Intern. Congr. Ser. 210, 163 (1970)
87. WYNN, V., DOAR, J.W.H., MILLS, G.L. and STOKES, T.: Fasting Serum Triglyceride, Cholesterol, and Lipoprotein Levels During oral Contraceptive Therapy. The Lancet 11, 756-760 (1969)

Lebenslauf

Am 21. Februar 1944 wurde ich, Dieter Heinz, als Sohn des Friedrich Heinz, leitender Angestellter bei der Stadtkämmerei Mainz, und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Freche, in Deutsch Krone/Westpreußen geboren.

Von 1950 bis 1955 besuchte ich die Volksschule und anschließend das humanistische Rabanus-Maurus-Gymnasium in Mainz.

Im Jahre 1959 wechselte ich in das neusprachliche und mathematisch-naturwissenschaftliche Gutenberg-Gymnasium über, an dem ich am 21.10.1966 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1966/67 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz in den Naturwissenschaften und konnte wegen Platzmangel erst im Sommersemester 1967 mit dem Studium der Medizin beginnen.

Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich am 1.7.1968 und am 3.10.1970 die Ärztliche Vorprüfung. Ich habe noch einen Zwilling Bruder, der an der gleichen Universität Volkswirtschaften studierte. Meine Ehefrau Eva-Maria, geb. Hauch, Sekretärin beim Hessischen Finanzministerium Wiesbaden, heiratete ich am 2.11.1973 in Wiesbaden.

Am 20.6.1974 habe ich mein Staatsexamen abgelegt. Als Medizinalassistent war ich in der Allgemeinen Chirurgie, im Institut für Anästhesiologie und in der Abteilung für Innere Medizin der Universitäts-Kliniken Mainz tätig.

Zur Bundeswehr wurde ich als Stabsarzt am 6.10.1975 einberufen, bei der ich zur Zeit noch bin.

Herrn Professor Dr. med. V. Friedberg, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Mainz, bin ich zu großem Dank verpflichtet für die Arbeitsmöglichkeit an seiner Klinik und die zur Verfügung gestellten Sachmittel.

Herrn Professor Dr. rer. nat. G. W. Oertel, Leiter der Abteilung für experimentelle Endokrinologie Mainz, der zu meiner tiefen Bestürzung plötzlich verstarb, gilt mein besonderer Dank. Er überließ mir das Thema der vorliegenden Arbeit und unterstützte mich stets mit wissenschaftlichem Rat in der Durchführung meiner Versuche.

Herrn Professor Dr. med. G. J. Kremer, damaliger Oberarzt an der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universität Mainz, jetziger Chefarzt der Abteilung für Innere Medizin am St. Josef Spital in Oberhausen, sei für die spezielle Auswahl der Patienten gedankt.

Herrn Dr. med. G. Hoffmann, Assistenzarzt an der Universitäts-Frauenklinik Mainz, danke ich für die wissenschaftliche Beratung bei der Erstellung des statistischen Teils in dieser Arbeit.

Herrn Dr. med. M. Schirazi, wissenschaftlicher Assistent in der Endokrinologie und Facharzt für Gynäkologie, trug meine in "Steroids Lipids Research" 5: 216-223 (1974) veröffentlichte Arbeit im Jahre 1973 freundlicherweise auf dem Endokrinologen-Kongreß in Tübingen vor. Hierfür bedanke ich mich sehr herzlich.

Allen Angestellten des Labors der Abteilung für experimentelle Endokrinologie Mainz spreche ich meine Anerkennung und Dank aus für ihre Hilfe bei der Aufarbeitung des anfallenden Materials zu dieser Arbeit.

Für die Weiterbetreuung meiner Doktorarbeit, die durch den Tod des Herrn Professor Dr. rer. nat. G. W. Oertel nicht mehr fertiggestellt werden konnte, stellte sich Herr Professor Dr. med. G. Rathgen bereitwillig zur Verfügung, wozu ich ihm sehr zu Dank verbunden bin.

